

THÈSES

présentées

A LA FACULTE DES SCIENCES DE L'UNIVERSITE DE LYON

pour obtenir

le grade de Docteur ès Sciences Naturelles

par

Jean L. BRUN

Première Thèse

L'ADAPTATION AUX TEMPÉRATURES ÉLEVÉES CHEZ UN NÉMATODE : *CAENORHABDITIS ELEGANS* Maupas 1900

Deuxième Thèse

PROPOSITIONS DONNEES PAR LA FACULTE

Soutenues le 29 mars 1966 devant la Commission d'Examen

MM. NIGON

L'HERITIER
LAVIOLETTE
LEGAY

Président

} Examineurs



UNIVERSITE DE LYON
FACULTE DES SCIENCES

Doyens honoraires

MM. LONGCHAMBON, MOUSSA, GAUTHIER Henri

Professeurs honoraires

MM. de LARAMBERGUE, SOLLAUD, MENTZER, MOUSSA, JAFFARD, EYRAUD Henri, DEJARDIN, VIRET

Doyen

M. BRACONNIER

Assesseurs

MM. MESNARD
BOLDIN

Professeurs

MM. LONGCHAMBON	Minéralogie
PRETTRE	Chimie industrielle
COURTY	Chimie-Physique
KUHNER	Botanique
MALECOT	Mécanique rationnelle et appliquée
PARIS	Chimie minérale
AUMERAS	Chimie générale II
COLONGE	Chimie organique
JANIN	Physique générale
FLANDRIN	Géologie appliquée
BERNARD	Physique industrielle
DUFAY Jean	Astronomie
NIGON	Zoologie expérimentale
GAUTHIER Henri	Géologie générale
WAUTIER	Zoologie
CHOPIN	Chimie biologique
CUEILLERON	Chimie
BRACONNIER	Calcul différentiel et intégral
EYRAUD Charles	Chimie-Physique appliquée
SARAZIN	Physique nucléaire
BOLDIN	Microbiologie et Mycologie
PERES	Physiologie

MM. MESNARD	Electronique
GRANDMONTAGNE	Physique
BOUTILLIER	Minéralogie
LAFOUCRIERE	Physique nucléaire théorique
DREUX	Chimie organique
TEICHNER	Chimie industrielle
PAVANS DE CECCATTY	Zoologie
MERLIN	Chimie analytique
DUFAY Maurice	Physique de l'Atmosphère
PHILBERT	Physique nucléaire
COHEN-ADAD	Chimie
DAVID Louis	Géologie générale
CHANEL	Psychophysiologie
MAURY	Méthodes Mathématiques de la Physique
DEPRAZ	Physique nucléaire
GAUTHIER Jean	Chimie
GAUME	Physique expérimentale
UZAN	Physique S.P.C.N.
LEGAY	Biologie animale

Professeurs sans chaire

MM. FERON	Mathématiques
LAFORGUE	Physique
CHENEVOY	Géologie appliquée
GINET	Zoologie
ASCH	Physique
MICHEL Pierre	Minéralogie
Mle MAITROT	Physique
GEVIN	Géologie générale
PONASSE	Mathématiques
D'INCAN	Physique
LEFEBVRE	Mathématiques
PERNET	Mathématiques
CHERY	Physique
BERGEON	Physique C.S.U.
Mle GAUTHERON	Chimie biologique
DESCOTES	Chimie organique
ERBEIA	Physique
Mme ERICSON	Physique générale
LEMOIGNE	Botanique

Maîtres de Conférences

MM. MARTEL	Mécanique
MATHIEU	Mécanique des Fluides
PICARD Philippe	Mathématiques
DEMARCO	Géologie générale
MICHEL Georges	Biochimie
LEBRETON	Biologie végétale

MM. DAVID Jean
TOUSSET
FEUVRAIS
PICARD Claude
SCHMITT
LAURENT
ROT
BETHOUX

Mle CALAIS
GUSAKOW

Mle THOMAS
COLOBERT
AUBIN
BUCHWALTER
BOUZON
COSNIER

Mle LAMOURE
PORTHAULT
VALLET

Biologie animale
Chimie propédeutique
Physique Electricité
Mathématiques
Physique C.P.E.M.
Chimie organique
Mathématiques
Mathématiques T.M.P.
Mathématiques
Physique
Chimie minérale
Physiologie
Analyse numérique
Mathématiques
Mathématiques C.S.U.
Psychophysiologie
Biologie végétale
Chimie C.S.U.
Chimie macromoléculaire

Maître de conférences adjoint

M. PIERRON

Chimie

Conseiller administratif

M. BURNET

Secrétaire principal honoraire

M. ROUX

Ce travail est ma contribution à l'effort de recherche poursuivi par toute l'équipe de la Section de Biologie générale et appliquée de la Faculté des Sciences de Lyon. En exprimant à son promoteur et à son animateur, Monsieur le Professeur NIGON, toute ma profonde gratitude pour son accueil, sa présence, ses conseils et ses critiques, je ne m'acquitterai jamais de toutes mes dettes. Que Monsieur le Professeur LEGAY veuille bien aussi accepter mes remerciements pour l'intérêt qu'il n'a cessé de manifester à la progression de mes études.

Je remercie Monsieur le Professeur L'HERITIER qui m'a fait le très grand honneur d'accepter de juger ce travail.

Malgré ses lourdes charges de responsable de la Section Biochimie de l'INSA de Lyon, Monsieur le Professeur LAVIOLETTE a toujours porté beaucoup d'intérêt à mes expériences et a bien voulu faire partie de mon jury : je lui en suis extrêmement reconnaissant.

Je conserverai toujours le meilleur souvenir des encouragements que n'ont cessé de me prodiguer Messieurs les Professeurs SOLLAUD et WAUTIER.

Je remercie Monsieur THIBAUT, Directeur de la Station centrale de Physiologie animale de l'INRA, d'avoir bien voulu accueillir ce mémoire dans les Annales de Biologie animale, Biochimie et Biophysique.

Je ne saurais oublier mes collègues et amis du Laboratoire de Biologie de l'INSA de Lyon ainsi que du Laboratoire de Zoologie générale de la Faculté des Sciences de Lyon. Et je voudrais tout particulièrement assurer de ma reconnaissance Mesdames GUERRIER et SZAFRANEK, ainsi que Monsieur RONCOLI, dont l'assistance technique me fut précieuse. Mes remerciements également à Madame JOLY.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553403_0028

TABLE DES MATIERES

PREMIERE PARTIE : L'ADAPTATION ET SON DEVELOPPEMENT	1
MATERIEL ET TECHNIQUES	6
CHAPITRE I : Différences de fécondité entre les lignées adaptées et la souche d'origine	13
CHAPITRE II : Le développement de l'adaptation	16
I - Obtention des formes adaptées	16
II - Les conditions de l'adaptation	17
CHAPITRE III : La reproductibilité des expériences	20
CONCLUSIONS	22
DEUXIEME PARTIE : STABILITE ET PHYSIOLOGIE DE L'ADAPTATION	29
CHAPITRE I : La stabilité de l'adaptation	31
A) Effets d'une diminution de température sur la fécondité des lignées adaptées	32
B) La fécondité après retour aux températures élevées	34
CHAPITRE II : Physiologie de l'adaptation : Modifications de la gamétogenèse et accoutumance aux températures élevées	39
DISCUSSION	47
TROISIEME PARTIE : ROLE DES FACTEURS AUTRES QUE LA TEMPERATURE DANS LE PROCESSUS D'ADAPTATION	57
CHAPITRE I : Rôle d'éventuelles transformations du milieu nutritif	59
CHAPITRE II : Rôle de la sélection	61
DISCUSSION GENERALE	73
I - Facteurs transmissibles responsables de la stabilité de l'adaptation	73
II - Par quels processus une souche non adaptée peut-elle devenir adaptée ?	77

L'ADAPTATION AUX TEMPERATURES ELEVEES CHEZ UN NEMATODE :

Caenorhabditis elegans MAUPAS 1900 (1)

PREMIERE PARTIE - L'ADAPTATION ET SON DEVELOPPEMENT

J. L. BRUN

Service de Biologie générale et appliquée
Faculté des Sciences de Lyon

S O M M A I R E

C. elegans est une espèce hermaphrodite se reproduisant par autofécondation. Cultivée à la température de 18° C, la souche montre une fécondité moyenne de 141 descendants par hermaphrodite.

Lorsqu'un embryon, obtenu d'un élevage à 18°, est transporté à 24°5 C, il se développe en un adulte de structure apparemment normale mais totalement infécond. Si, à partir du même élevage à 18° C, un embryon est transporté à 23° C, il évolue en un adulte de fécondité très amoindrie. Les générations suivantes, maintenues à 23° C, montreront une fécondité moyenne décroissante jusqu'à la stérilité complète qui survient en 5 à 6 générations. On peut donc distinguer, dans l'échelle des températures comprises entre 20 et 25° C, entre des températures normalement supportées (voisines de 20° C) et des températures directement stérilisantes (supérieures à 24° C), des températures qui déterminent, en l'espace de quelques générations, une chute de fécondité qui conduit à la disparition de la lignée étudiée.

(1) Ces recherches correspondent à une thèse soutenue devant la Faculté des Sciences de LYON (1966)

Si l'on transporte directement les animaux de 18 à 22°, on constate d'abord la chute progressive de la fécondité au cours des générations successives. Cependant, cette baisse atteint alors un minimum pour se relever ensuite de façon graduelle. On obtient ainsi une lignée qui paraît parfaitement adaptée à la température de 22°.

Si à partir de cette lignée, on essaie d'obtenir une acclimatation à 23°, les résultats sont négatifs lorsque la tentative est effectuée sur des animaux accoutumés à 22° depuis moins de 90 générations. Mais lorsqu'ils sont prélevés après la 95ème génération à 22°, les Nématodes portés à 23° surmontent la phase de fécondité décroissante manifestée dans les premières générations qui suivent le transfert. En effet, après avoir atteint un minimum, la fécondité se relève progressivement pour produire finalement une souche stable à 23°.

A partir de cette souche acclimatée à 23°, les mêmes résultats sont observés lors d'un transfert à 23°5 : celui-ci a donné lieu à une accoutumance seulement si la tentative est effectuée à partir de la 252ème génération élevée à 23°.

Par le même procédé - et grâce à des paliers de 0°5 - on a pu obtenir finalement une lignée indéfiniment fertile à 24°5. Cette lignée diffère radicalement de la lignée d'origine qui, à cette même température, s'avérait immédiatement et irrémédiablement stérile.

INTRODUCTION

Une des caractéristiques les plus fondamentales des êtres vivants réside dans leur aptitude à supporter les variations du milieu extérieur en évoluant. Ces transformations adaptatives peuvent se produire au cours de l'existence d'un individu : il s'agit alors d'adaptation physiologique. Mais elles peuvent aussi se manifester à l'échelle de l'espèce, dans une série de générations consécutives. On parlera dans ce cas d'une adaptation génétique, sans préjuger, par l'emploi de ce terme, de la nature des mécanismes en cause. C'est cette dernière modalité qui fait l'objet de ce travail consacré à l'étude d'une accoutumance à des températures élevées.

Après beaucoup d'autres auteurs, HINSHELWOOD (1947) a noté de façon très pertinente, l'intérêt particulier que peut présenter l'étude des adaptations thermiques : "D'un point de vue théorique, on peut dire que l'adaptation à la température doit être un processus qui nécessite des changements dans le matériel cellulaire beaucoup plus profonds que ceux qui accompagnent l'entraînement aux drogues ou aux nouveaux substrats". D'autre part, de nombreux problèmes biologiques peuvent être rattachés à l'étude des adaptations thermiques ; depuis l'existence d'espèces ou de variétés thermophiles dans le monde vivant, qui comprennent en particulier les parasites des Homéothermes (MEYL 1953 ; PRECHT, CHRISTOPHERSEN et HINSEL 1955 ; PROSSER 1958 ; OSCHKE 1962) jusqu'aux questions pratiques que pose la création d'un cheptel productif dans les pays tropicaux (COLLOQUE ZOOTECHNIQUE DE GEMBOUX 1960 ; DUCLOS 1961).

Dans ces conditions, il est tout à fait étonnant de constater le petit nombre des recherches se rapportant au déterminisme de l'adaptation aux températures élevées.

C'est seulement chez les Microorganismes que les résultats sont assez nombreux et divers pour permettre de considérer comme prouvée la possibilité de réaliser au laboratoire leur adaptation aux températures élevées (DALLINGER 1887 ; DIEUDONNE 1894 ; JOLLOS 1921 ; ELUYVER et BAARS 1932 ; POLJANSKI 1957 ; etc ...).

Chez les Pluricellulaires, un seul cas d'adaptation génétique aux températures élevées est mentionné dans la littérature ! Il s'agit du Copépode Daphnia longispina (BANTA 1939) : dans un clone sexué - issu d'une souche parthénogénétique conservée depuis 14 ans à la température du laboratoire - les auteurs remarquèrent l'apparition, après une période estivale caniculaire, d'individus thermorésistants qu'ils considèrent comme des mutants au vu de leur stabilité.

Dans ce contexte, on conçoit qu'un doute persiste chez beaucoup d'auteurs quant à la possibilité d'obtenir expérimentalement, chez les Métazoaires, une adaptation aux températures élevées.

Cependant l'indigence des succès expérimentaux dans ce domaine semble découler surtout des difficultés que présente une expérimentation nécessairement étalée sur un nombre élevé de générations. Or, dans cette perspective, Caenorhabditis elegans offre des possibilités exceptionnelles :

- 1°) Les études de longue durée sont facilitées par la brièveté du cycle de reproduction de ce Nématode (4 jours à 23°5) ;
- 2°) Le comportement des Nématodes peut être examiné tant au niveau de l'individu qu'à celui de la population grâce à leur forte fécondité ;
- 3°) L'hermaphrodisme autofécond de C. elegans permet d'éviter un écueil sur lequel ont buté de nombreux chercheurs : la sensibilité thermique différente des mâles et des femelles chez les organismes à sexes séparés.

LES TECHNIQUES DE L'ADAPTATION

Chez les Microorganismes, le procédé le plus efficace pour obtenir une adaptation thermique consiste à exposer les cultures, pendant des durées convenables, à des températures progressivement augmentées : l'adaptation semble alors résulter d'un effet cumulatif exercé par les facteurs du milieu.

Un mécanisme analogue est fréquemment invoqué à propos du développement de la résistance aux toxiques chez les Microorganismes (SCHNITZER et GRUNBERG 1957 ; DEAN et HINSHELWOOD 1963). Chez les Pluricellulaires également, les exemples ne manquent pas où l'action soit répétée soit continue de facteurs tant physiques que chimiques s'exerçant sur plusieurs générations successives conduit à une amélioration progressive du comportement ou à l'amplification graduelle d'une modification initiale.

A propos des facteurs physiques, citons en particulier :

- l'augmentation progressive de la résistance au froid chez des souris inbred maintenues pendant 16 générations successives à - 3° C (BARNETT 1965)
- les phénomènes d'assimilation génétique issus de chocs thermiques répétés sur Drosophila melanogaster (BATEMAN 1959 ; WADDINGTON 1961 ; BORZE-DOWSKA 1963).

En ce qui concerne les facteurs chimiques, je me bornerai à mentionner :

- le développement de la résistance des Arthropodes aux Insecticides (BROWN 1959 ; UNTERSTENHOFER 1960 ; PESSON 1960 ; STERN 1962) ;
- le mélanisme industriel des Lépidoptères obtenu grâce à l'intoxication des chenilles par des sels de plomb ou de manganèse (HARRISON 1929 ; WALTHER 1932) ;

- les expériences d'allotrophie grâce auxquelles divers insectes phytophages ont pu être accoutumés progressivement à une nouvelle plante : Pucerons parthénogénétiques (SAMOKHVALOVA 1954 ; SHAPOSHNIKOV 1961 ; SMIRNOV 1954) ; Carausius morosus (SLADDEN et HEWER 1938) ; Lépidoptères et Diptères (PICTET 1906 ; AVERKIEV 1952 ; SIMONOV 1952 ; LE BERRE 1960) ;

- les modifications de la durée du développement chez Drosophila melanogaster suralimenté (DAVID 1962), la diminution de la taille chez la Limnée sous-alimentée (BOETTGER 1956).

Dans les exemples que je viens de citer et qui ne constituent pas une liste exhaustive, une question fondamentale reste sans réponse : le facteur externe est-il la cause première de l'accoutumance ou joue-t-il seulement le rôle d'agent sélecteur mettant en évidence des possibilités adaptatives pré-existantes ? Dans le cas de C. elegans, il semblait que ce problème pouvait être défini au mieux grâce aux caractéristiques mêmes de la reproduction de ce Nématode. En effet, cet animal peut être maintenu continuellement en culture sous la forme d'hermaphrodites autoféconds. Avant mon expérimentation, la souche employée avait été élevée au laboratoire, pendant plus de 12 ans (c'est-à-dire environ 700 générations). Il devait donc en résulter une complète homogénéité génétique des animaux. Dans ces conditions, il y a tout lieu d'assimiler ce Nématode à une lignée pure.

Or l'inefficacité de la sélection sur une lignée pure n'est plus à démontrer depuis les travaux célèbres de JOHANNSEN (1913) et FRUWIRTH (1917) sur les végétaux autoféconds, de AGAR (1914) et EWING (1916) sur les animaux parthénogénétiques, de LASHLEY (1915) sur les Métazoaires à reproduction asexuée, enfin de TOWER (1906) sur le Doryphore. Ainsi l'adaptation de ce Nématode ne semble pas pouvoir résulter d'une éventuelle sélection par la température. Le traitement thermique doit être considéré comme responsable de l'établissement des mécanismes adaptatifs. Encore faut-il être sûr que dans ce traitement thermique la température soit le seul facteur actif. Ceci nécessite, en particulier, le contrôle d'éventuelles transformations du milieu nutritif.

Une solution satisfaisante a pu être apportée à ce problème au cours de recherches préliminaires (BRUN, sous presse).

J'ai donc entrepris de suivre le comportement des Nématodes - en me basant sur l'évolution de leur fécondité - de façon à obtenir des formes dont les caractéristiques soient nettement différentes de la souche originelle.

L'étude du processus évolutif, l'examen des propriétés des formes adaptées devraient nous informer jusqu'à un certain point sur la nature des mécanismes en cause. Bien que l'ensemble du programme fixé soit encore loin d'être achevé, la nature des résultats obtenus d'une part, la lenteur des processus observés déjà pendant une durée de dix années, me paraissent justifier dès à présent la publication des résultats obtenus.

PLAN GENERAL DU TRAVAIL

Dans une première partie - qui correspond au présent article - je tenterai de caractériser l'adaptation obtenue tant par l'examen des formes adaptées qu'en étudiant la naissance des différences adaptatives.

Une seconde partie sera consacrée à l'analyse de la stabilité de l'adaptation.

La troisième partie considèrera le rôle de certains facteurs dans la production de l'adaptation et conduira à une certaine conception sur la nature des mécanismes en cause.

M A T E R I E L E T T E C H N I Q U E S

A - LE MATERIEL BIOLOGIQUE

Les caractéristiques morphologiques, biologiques et cytologiques de ce Nématode ont déjà été décrites (MAUPAS 1900 ; NIGON 1949 ; NIGON et BRUN 1955 ; BRUN 1955 ; DELAVault 1959). Elles peuvent se résumer très brièvement ainsi : Nématode libre, terricole ; long de 1 mm environ à maturité sexuelle ; hermaphrodite autogame protandre à l'exception de très rares mâles (environ 10/100).

Tous les animaux employés font partie de la souche Bergerac mise en culture par NIGON en 1944.

B - LE MILIEU NUTRITIF

Je ne mentionnerai ici que certaines données indispensables (BRUN, sous presse).

1) CONSTITUTION DU MILIEU

Le milieu nutritif employé comporte une fraction inerte et une fraction vivante :

- la fraction vivante est constituée essentiellement de trois formes bactériennes : Bacillus megatherium, Flavobacter et Pseudomonas maltophilia.

- la fraction inerte est de composition chimique relativement bien définie puisqu'à l'eau et à l'agar-agar on adjoint quelques sels minéraux, de la lécithine et de la peptone pepsique. Le milieu standard (= milieu S) est celui employé par NIGON (1949). Un ensemble d'expériences a permis de montrer que l'on réalise de meilleures conditions, pour l'élevage des Nématodes, aux températures élevées, en employant un milieu 2,3 fois plus concentré que le milieu S (= milieu 2,3 S).

Quelques expériences ont été réalisées sur milieu S auquel on ajoute une trace de suspension de levure de boulangerie vivante (= milieu S + L).

2) FABRICATION ET CONSERVATION DE LA FRACTION INERTE DU MILIEU NUTRITIF

Tout a été mis en oeuvre pour assurer une composition et une conservation constantes.

Pour cela, un stock de fraction inerte est constitué, en une seule fabrication, pour 2 années environ d'expériences. Pour éviter la formation d'un stock par trop volumineux, la concentration de cette fraction inerte est portée à 23 fois celle du milieu S. Ce qui oblige à écarter l'agar-agar de sa composition. Ce stock, réparti dans des petits flacons hermétiquement clos, est conservé à

- 20° C.

Au moment de l'emploi on ajoute, à la dose connue de fraction inerte contenue dans chaque flacon, la quantité de gélose et d'eau distillée nécessaires pour obtenir la concentration désirée. Cette adjonction s'effectue à l'autoclave dans des conditions constantes (pour toutes les expériences sur milieu 2,3 S, le même stock d'agar-agar KOBE n° 1 a été employé - cf SANG et BURNET 1963).

C - LES METHODES D'ELEVAGE

L'élevage est fait, selon la technique de NIGOH (1949), sur une lame porte-objet à la surface de laquelle on dépose une goutte épaisse de gélose nutritive. Ces lames sont disposées dans des boîtes à rainures en verre, d'utilisation courante en histologie.

- a) la mise en culture des Nématodes se réalise tout la coupe. On introduit dans la goutte de gélose un unique géniteur hermaphrodite. Les oeufs qu'il produira seront déposés sur et dans la goutte de milieu jusqu'à la mort du géniteur ou jusqu'au moment de son transfert dans une autre goutte identique. Dans ce dernier cas, les oeufs pondus dans la première goutte de milieu y demeurent et y poursuivent leur développement. La fréquence des repiquages dépend de la fécondité des reproducteurs, de leur durée de ponte et de la vitesse de développement de leurs descendants. De toutes façons l'intervalle entre deux repiquages successifs doit être calculé de telle sorte que :

- une culture ne contienne jamais plus d'une centaine de descendants issus d'un même géniteur et appartenant à la même génération,

- les descendants se trouvant dans une même goutte soient d'âges voisins et dans un état physiologique aussi homogène que possible.

En fait l'intervalle entre deux repiquages a toujours été compris, dans mes cultures, entre 1 et 2 jours, même pour le simple entretien des souches.

- b) les boîtes à rainures sont placées dans des étagères munies d'un système de

ventilation permanente. Ces étuves ont permis de résoudre au mieux les problèmes de constance de température ($\pm 0^{\circ}1$ C) et d'équilibration thermique du milieu à la suite des repiquages. Cette équilibration exige seulement 30 ± 5 minutes si, pendant l'heure qui précède le repiquage, on prend soin de faire séjourner les gouttes de milieu dans l'étuve dont la température correspond à celle de la culture désirée.

- c) les cultures sont effectuées à l'obscurité. A partir de la souche maintenue à 18° sur milieu S + L d'abord puis sur milieu 2,3 S, diverses lignées ont pu être élevées à des températures plus élevées : dans tous les cas, l'entretien des cultures est réalisé en respectant les règles suivantes :

- pour chacune des lignées et à chaque génération, on prélève 10 géniteurs qui fourniront la génération suivante. Chacun d'entre eux est isolé dans une goutte de gélose nutritive. Après quelques jours, on y trouvera l'ensemble de sa progéniture ou seulement une partie de celle-ci dans le cas où le géniteur aura été retiré avant la fin de sa période de reproduction.

Parmi les 10 cultures ainsi obtenues, on choisit celle qui semble renfermer la population la plus nombreuse et on y prélève les 10 reproducteurs à l'origine de la génération suivante. Leur sélection s'effectue sur les bases ci-après :

α) Les hermaphrodites transplantés doivent avoir atteint l'état adulte mais ils ne doivent pas encore renfermer d'oeufs dans l'utérus ;

β) Les reproducteurs doivent être choisis parmi les individus issus des premiers oeufs pondus. De ce fait, on élimine les possibilités d'intervention des très rares mâles ($1^{\circ}/100$) qui apparaissent essentiellement en fin de ponte (NIGON 1949).

D - LA CARACTERISTIQUE EXAMINEE : LA FECONDITE

Les températures élevées sont susceptibles de provoquer de nombreuses perturbations chez les Nématodes.

Seule la fécondité a été constamment mesurée dans des conditions permet-

tant une analyse statistique : la fécondité est définie par le nombre total de descendants ayant atteint l'état adulte, issus d'un individu hermaphrodite. Cette façon d'apprécier la fécondité a été adoptée devant l'impossibilité pratique de déterminer le nombre d'oeufs pondus par chaque géniteur, à cause de leur petite taille (55 μ) et de leur transparence.

La fécondité se prête bien à une analyse quantitative. Outre la fécondité moyenne de chaque génération, on peut considérer la fécondité maximum ainsi que le pourcentage de stériles et la durée de la période fertile. La fécondité fournit donc un critère plus explicite qu'une réaction du tout ou rien comme la létalité si couramment utilisée cependant dans les études de résistance aux toxiques.

1) LES CONDITIONS D'UNE APPRECIATION EXACTE DE LA FECONDITE

Grâce à la transparence de la gélose nutritive, il a été possible - par la mise au point d'un appareil de type lecteur de profil - de projeter la goutte de culture préalablement aplatie entre deux lames de verre, avec les animaux qu'elle contient. Si dans ces conditions les vers peuvent être facilement et rapidement dénombrés, on doit veiller à ce que la totalité de la descendance d'un reproducteur soit dénombrée. Pour cela, il faut éliminer les cultures dans lesquelles le géniteur n'est pas demeuré jusqu'à la fin de la ponte mais surtout, il faut éviter que les descendants ne s'évadent de la goutte de gélose nutritive.

La réalisation de ces conditions implique un choix convenable des durées séparant deux repiquages successifs de l'individu parental ainsi que du moment auquel la culture sera dénombrée. Dans les conditions utilisées, ces choix dépendent essentiellement de la température à laquelle est pratiqué l'élevage. Le tableau I - 1 résume l'ensemble des conditions que j'ai employées.

2) REALISATION DES EXPERIENCES

Deux facteurs sont susceptibles de rendre difficile l'appréciation des résultats :

- la variabilité individuelle,

TEMPERATURES D'ÉLEVAGE	DURÉE DE DÉVELOPPEMENT (*) (en jours)	LONGÉVITÉ (**) (en jours)	DURÉE DE PONTE (en jours)	ÂGE DES NEMATODES AU MOMENT DES REPIQUAGES SUCCESSIFS (en jours)	ÂGE DE LA CULTURE LORS DU DÉMARRAGE DES DESCENDANCES
14° C	7	20	8	a) 7 b) 9 c) 11 d) 13	15ème jour 17ème jour 19ème jour 21ème jour
18° C	4 1/2	11	4 1/2	4 1/2 6 7 1/2	10ème jour 11ème jour 13ème jour
22° C	3 1/2	9	3	3 4 1/2	7ème jour 9ème jour
NEMATODES ADAPTÉS					
23° C	3	8	1 1/2	3	8ème jour
23°5 C	3	7	1	3	7ème jour
24° C	3	7	20 heures	3	7ème jour
24°5 C	3	7	18 heures	3	7ème jour

T A B L E A U I

Quelques caractéristiques biologiques de *Caenorhabditis elegans* ; leur influence sur les modalités de l'élevage et du dénombrement des descendance

* La durée du développement correspond au temps écoulé entre la mise en culture du géniteur adulte, mais encore dépourvu d'oeufs dans l'utérus, et l'apparition des premiers adultes dans la descendance

** La longévité est estimée par la durée moyenne de vie d'un groupe d'individus

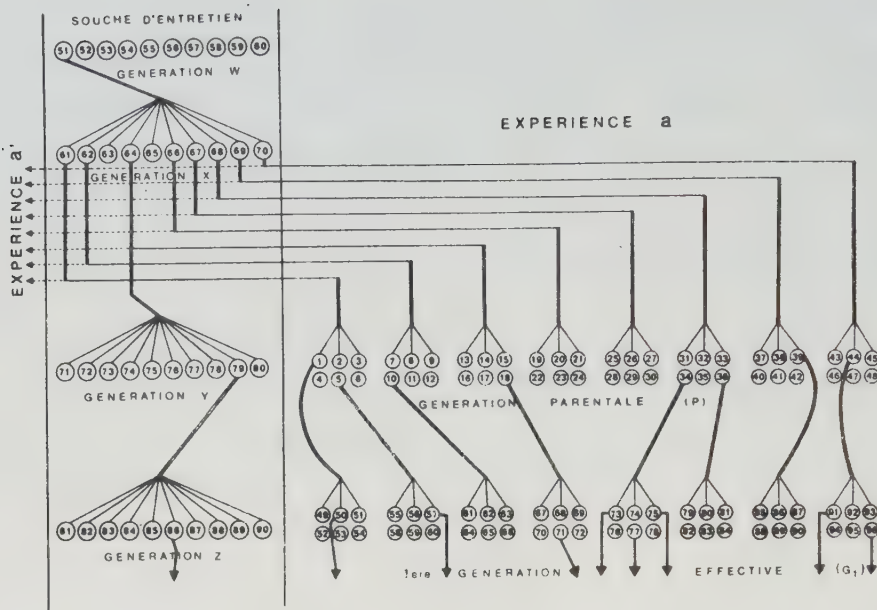


figure I - 1 a

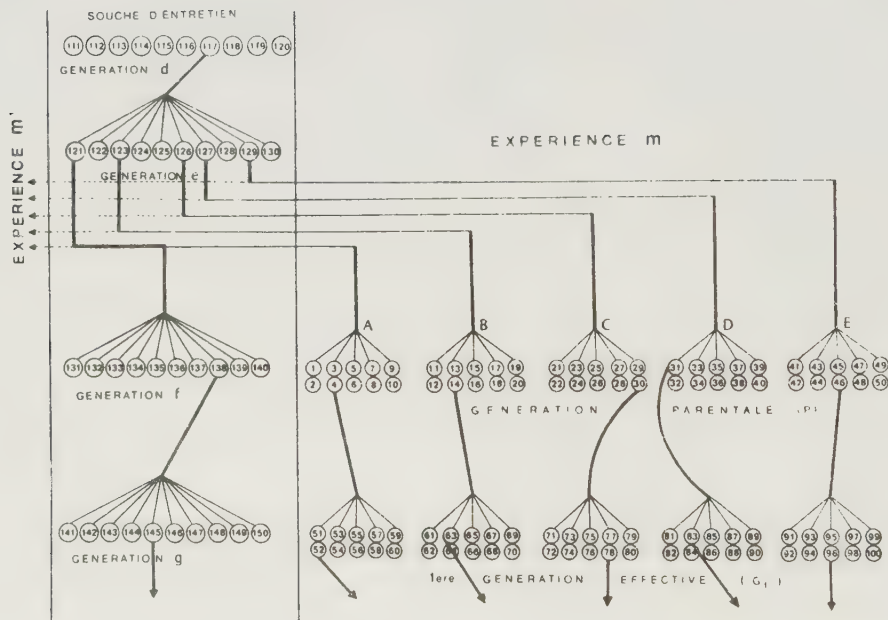


figure I - 1 b

FIGURE I - 1 : CHOIX DES REPRODUCTEURS DANS LES EXPERIENCES DESTINEES A L'ETUDE DE LA FECONDITE DE C. elegans

Fig. I-1 a : Modalité expérimentale I - Fig. I-1 b : Modalité expérimentale II

(81) = Numéro du géniteur contenu dans une goutte de milieu nutritif)

- les irrégularités éventuelles dans la pression de sélection que l'on exerce fatalement par le choix des reproducteurs.

Dans les expériences de courte durée, l'influence de la variabilité individuelle est atténuée si l'on considère, à chaque génération, le comportement d'un nombre de géniteurs supérieur à 30. Pour obtenir ce nombre, quels que soient les aléas de l'expérience, 50 reproducteurs doivent être mis en culture.

Lorsque les expériences s'étalent sur plusieurs centaines de générations, les manipulations nécessaires pour maintenir les conditions précédentes dépassent les possibilités d'un expérimentateur. La culture de plusieurs lignées ne permet de travailler à chaque génération, que sur des nombres d'animaux plus faibles compris entre 10 et 30.

Le choix des reproducteurs a été fait de diverses manières, selon les catégories d'expériences. Dans les expériences ne portant que sur un petit nombre de générations deux modalités ont été employées.

MODALITE EXPERIMENTALE I (fig. I - 1 a)

On étudie à chaque génération le comportement de 8 groupes de 6 reproducteurs. Dans chaque groupe, les 6 géniteurs proviennent d'un seul parent. Le choix des 8 cultures parentales est basé sur les critères suivants :

- chacune doit renfermer la plus forte population possible de descendants (appréciation approximative puisque sa détermination exacte oblige à tuer les animaux) ;
- elle ne doit pas montrer une liquéfaction de la culture bactérienne ;
- elle ne doit pas présenter d'individus aberrants par leur aspect.

Ce choix est effectué généralement parmi les 48 cultures de la génération précédente (sauf au moment du lancement de l'expérience à partir de la souche d'entretien). Ces conditions ont été le plus fréquemment utilisées au cours de ce travail.

MODALITE EXPERIMENTALE II (fig. I - 1 b)

Dans ce cas, on maintient pendant toute la durée de l'expérience 5 lignées

issues de 5 Nématodes différents de la souche d'entretien. Chacune de ces 5 lignées est composée, à chaque génération, de 10 Nématodes prélevés dans la descendance d'un seul animal de la génération précédente. Le choix de cette culture parentale est effectué en se basant sur les mêmes critères que ceux définis pour la modalité expérimentale I.

Dans cette forme d'expérience, la population obtenue à chaque génération n'est pas homogène. En effet, bien que la pression de sélection soit analogue pour chacune des lignées (choix des géniteurs parmi la descendance de l'animal le plus fécond de chacun des groupes A, B, C, D, E), l'animal le plus fécond du groupe A, par exemple, peut être considérablement moins fécond que celui du groupe E.

Lorsque l'expérience est poursuivie pendant plus de 100 générations, seule la modalité expérimentale II peut être utilisée. On maintient ainsi 2 ou 3 lignées seulement qui sont perpétuées grâce à un effectif de géniteurs compris entre 5 et 15, par génération.

Génération successives étudiées à 23°5	Nombre d'expé- riences 18° + 23°5 effectuées	Nombre d'expé- riences 18° + 23°5 avec sté- rilité totale des généteurs	NOMBRE DE GENITEURS		NOMBRE DE DESCENDANTS	FECONDITE MOYENNE ± INTERVALLE DE CONFIANCE DE LA MOYENNE		FECONDITES MAXIMA				
			18 + 23°5	23°5		18° + 23°5	23°5	18° + 23°5	23°5			
Total Stériles (%)			Total Stériles (%)	18° + 23°5	23°5	18° + 23°5	23°5					
G ₁	11	0	421	46	422	1	2879	17141	6,8±2,2	40,6±6,1	67	99
G ₂	11	0	450	49	445	3	2574	18129	5,7±1,2	40,7±6,2	49	97
G ₃	11	0	451	48	411	2	2710	16493	6,0±1,7	40,1±4,6	39	99
G ₄	6	0	247	54	176	2	1067	6765	4,3±2,3	38,4±7,4	42	93
G ₅	5	1	170	71	184	3	476	7187	2,8±1,9	39,1±5,9	26	91
G ₆	5	3	156	75	110	3	273	3934	1,8±2,4	35,8±6,1	19	86
G ₇	5	5	156	100	160	2	0	6051	0	37,8±4,2	0	97
Totaux			2051		1908	2	9979	75700				

ENSEMBLE
D'EXPERIENCES 33 h

T A B L E A U 1-2

Comparaison à 23°5 de la fécondité

- a) de la souche non adaptée à cette température et transférée de 18 à 23°5 où elle demeure jusqu'à 7 générations (= souche 18° + 23°5)
- b) de la lignée adaptée (= lignée 23°5)

CHAPITRE I - DIFFERENCES DE FECONDITE ENTRE LES LIGNEES ADAPTEES ET LA SOUCHE D'ORIGINE

La souche d'origine a été maintenue de façon constante à 18°. A partir de cette souche, j'ai créé des lignées "adaptées" à diverses températures plus élevées : 22° - 23° - 23°5 - 24° - 24°5.

Une comparaison de fécondité entre deux souches (souche d'origine maintenue à 18° et souche adaptée à 23°5 par exemple) permet de définir ce qui les distingue. Cette comparaison est effectuée, le plus souvent, en plaçant les formes comparées dans des conditions identiques.

Dans un premier stade nous examinerons ainsi le comportement de la souche d'origine et d'une souche adaptée (à 23°5 par exemple), portées toutes deux à la température d'adaptation (23°5). Nous verrons ensuite comment se comportent ces deux souches quand elles sont placées toutes deux à la température d'origine (18°). Enfin je décrirai leur évolution lorsqu'elles sont transférées à une température supérieure à la température d'adaptation (c'est-à-dire, dans l'exemple présent, à plus de 23°5).

1) LA FECONDITE AUX TEMPERATURES ELEVEES

Le tableau I - 2 donne un exemple du mode de comparaison utilisé. On a placé à 23°5, dans des conditions identiques, (milieu 2,3 S ; modalité expérimentale I) d'une part des individus issus de la 1258ème génération de la souche maintenue à 18° (processus indiqué par le signe 18° → 23°5), d'autre part des individus provenant de la 453ème génération adaptée à 23°5. L'expérience est poursuivie parallèlement durant 7 générations.

On voit que la fécondité de la souche adaptée se maintient, avec des fluctuations, proche d'une valeur de 40. La souche non adaptée au contraire voit, avec les générations, décroître sa fécondité et augmenter la proportion

de stériles ; à la 7ème génération au plus tard intervient son infécondité totale ce qui met fin à l'expérience.

Des expériences de ce genre ont été pratiquées à diverses dates (de 1956 à 1965), à des températures et sur des milieux différents. Grâce à la stabilité relative de la souche conservée à 18° (pendant toute la période mentionnée ci-dessus la fécondité s'est maintenue aux environs de 140 descendants par hermaphrodite), ces expériences permettent de tirer un certain nombre de conclusions :

1 - Le tableau I - 3 révèle que le nombre de générations auxquelles peuvent se reproduire des animaux provenant de 18° diminue à mesure que la température s'élève : transférés à 24°5 sous forme d'oeufs ou de larves âgés de 24 heures, les animaux provenant de 18° donnent des adultes immédiatement stériles. D'autre part, pour des conditions de température identiques, la fertilité persiste plus longtemps sur milieu 2,3 S que sur milieu S + L (BRUN, sous presse).

2 - Lorsqu'on transfère à température élevée des Nématodes issus de la souche perpétuée à 18° (figure I - 2), la fécondité de la première génération (G_1) décroît à mesure que la température s'élève. Il en va de même pour les animaux de 2ème génération (G_2). Et ceci aussi bien sur milieu S + L que sur milieu 2,3 S.

3 - la figure I - 3 reprend les chiffres du tableau I - 2 (expérience effectuée après 453 générations d'adaptation à 23°5) en y ajoutant ceux d'une expérience parallèle, effectuée après seulement 340 générations d'adaptation. On constate que, dans les deux cas, l'évolution vers la stérilité de la souche non adaptée est analogue. Les lignées adaptées conservent, au contraire, leur fécondité au long de l'expérience. On notera la fécondité plus faible de la lignée adaptée seulement depuis 340 générations à 23°5. On constate ainsi que le degré d'adaptation d'une lignée, exprimé par sa fécondité, augmente avec le temps. C'est un point sur lequel nous reviendrons.

4 - Les résultats précédents ont été observés à de nombreuses reprises. Toutefois il arrive qu'ils soient perturbés par la variabilité inhérente à des expériences de ce genre que représentent bien les intervalles de confiance portés sur la figure I - 3. Ainsi, dans le passage 18 + 23°5, il arrive que certaines lignées ne puissent subsister plus de 4 générations à

MILIEUX ET TEMPERATURES AUXQUELLES SONT TRANSFERES
LES NEMATODES PRELEVES A 18°

	MILIEU S + L				MILIEU 2,3 S		
	22°	23	23,5	24	23,5	24	24,5
NOMBRES MAXIMA DES GENERATIONS SUSCEP- TIBLES D'ETRE OBTENUES APRES TRANSFERT DIRECT	∞	5	3	1	7	2	1
NOMBRE TOTAL DES GENITEURS ETUDIES	1246	1494	865	157	2453	233	741
NOMBRE D'EXPERIENCES EFFECTUEES (à des dates différentes)	5	6	10	1	13	2	8

TABLEAU I-3

Durée de survie à température élevée de cultures établies à partir
de la souche maintenue continuellement à 18°

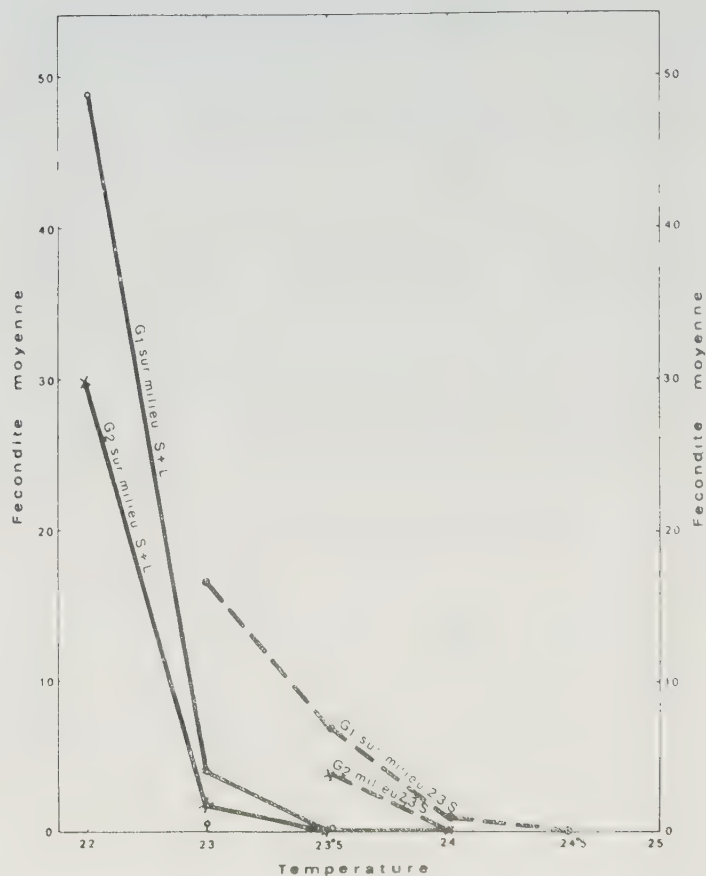


FIGURE I - 2 : INFLUENCE DE LA TEMPERATURE SUR LA FECONDITE MOYENNE D'ANIMAUX PROVENANT DIRECTEMENT DE LA SOUCHE A 18° (G₁ = FECONDITE DE LA 1^{ère} GENERATION A LA TEMPERATURE D'EXPERIENCE : G₂ , FECONDITE DE LA SECONDE GENERATION)

— Fécondités observées sur milieu S + L

- - - Fécondités observées sur milieu 2,3 S

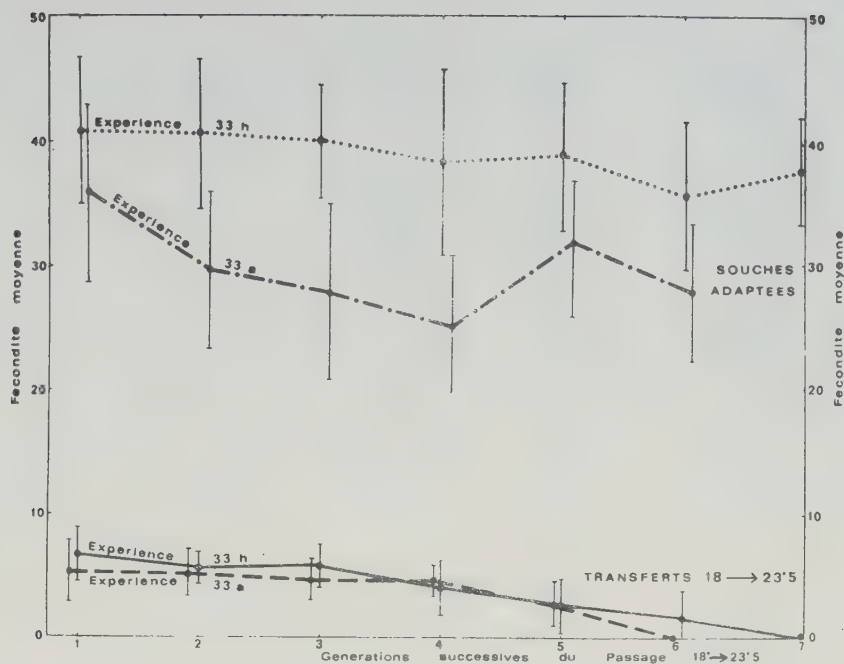
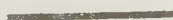


FIGURE I - 3 : COMPARAISON, à 23°5, DE LA FECONDITE MOYENNE DES NEMATODES ADAPTES ET NON ADAPTES A CETTE TEMPERATURE

Expérience 33 a {
 Lignée adaptée depuis 340 générations à 23°5
 Générations issues de la 1190ème génération à 18° transférée à 23°5

Expérience 33 h {
 Lignée adaptée depuis 453 générations à 23°5
 Générations issues de la 1258ème génération à 18° transférée à 23°5

 Intervalle de confiance pour un risque de 5%.
Modalité expérimentale I. Milieu nutritif 2,3 S

MILIEU S + L

MILIEU 2,3 S

MILIEU 2,3 S

Souche 18°			22° + 18°			Souche 13°			23° + 18°			Souche 18°			23°5 + 18°		
Durée éle- vage	Fécon- dité moyen- ne		Durée éle- vage à 22°	Fécon- dité moyen- ne		Durée éle- vage	Fécon- dité moyen- ne		Durée éle- vage à 23°	Fécon- dité moyen- ne		Durée éle- vage	Fécon- dité moyen- ne		Durée éle- vage à 23°5	Fécon- dité moyen- ne	
992e G	126,0 ±17,6		297e G	165,4 ±19,7	G ₁				398e G	215,4 ±31,4	G ₁	1190e G	130,4 ±23,3		347eG	240,8 ±23,1	G ₁
					↓ G ₂											↓ G ₂	
993e G	127,9 ±22,4			161,8 ± 8,6		1061e G	153,2 ±19,5			207,3 ±17,0		1191e G	160,0 ±25,1			202,1 ±17,6	
					G ₁	1147e G	163,9 ±23,6		529e G	270,4 ±25,7	G ₁	1201e G	141,5 ±15,8		364e G	229,9 ±13,3	G ₁
					↓ G ₂											↓ G ₂	
						1148e G	157,7 ±22,2			269,4 ±25,9		1202e G	134,8 ±12,1			242,2 ±18,5	
					G ₁	1150e G	141,5 ±27,7		550e G	222,1 ±30,1	G ₁	1219e G	142,9 ±15,4		393e G	213,6 ±19,0	G ₁
																↓ G ₂	
												1220e G	125,2 ±17,3			233,5 ±22,3	

T A B L E A U I-4

Comparaison, à 18°, entre les fécondités moyennes de la souche élevée continuellement à cette température (= souche 18°) d'une part, des deux premières générations à 18° des lignées adaptées à 22° (= 22 → 18), à 23° (= 23 → 18) et à 23,5° (= 23,5 → 18) d'autre part.

Expé- rien- ces	Nb're Exp.	Durée élevage à	Durée élevage à	Généra- tions étudiées à	NOMBRE DE GEMITEURS				FECUNDITES MOYENNES				FECUNDITE MAX.	
					18°	23°5 + 18°	18°	23°5 + 18°	18°	23°5 + 18°	18°	23°5 + 18°	18°	23°5 + 18°
					Total	de stériles	Total	de stériles						
Exp. 31 b	1	1150e G	279e G	G ₁	37	3	35	0	164,0*23,6	256,1*13,0	275	320		
	1	1151e G		G ₂	40	3	37	0	157,7*22,2	248,7*18,2	279	335		
	1	1152e G		G ₃	31	0	37	0	120,8*21,2	239,6*13,0	202	311		
	1	1153e G		G ₄	40	0	37	0	154,1*19,5	247,8*17,5	252	346		
Exp. 33 h	1	1249e G	444e G	G ₁	33	3	39	0	130,5*26,6	233,5*16,9	256	339		
	1	1250e G		G ₂	29	3	35	0	124,2*16,7	237,7*20,1	209	308		
	1	1251e G		G ₃	39	0	36	0	152,7*18,6	242,9*15,9	259	333		
	1	1252e G		G ₄	27	6	29	0	135,9*28,0	243,0*24,5	234	328		
Ensemble des expé- riences	5			G ₁	194	4	194	0	141,8*13,7	234,8*15,5	275	346		
	5			G ₂	181	3	184	0	140,4* 9,7	232,8*18,1	279	333		
	2			G ₃	70	0	108	0	136,8*22,5	243,8* 6,6	259	353		
	2			G ₄	40	3	99	0	145,0*18,2	250,3*12,3	252	346		

T A B L E A U I - 5

Comparison, à 18°, entre les récondités de la souche élevée continuellement à cette température
(= souche 18°) d'une part, de la lignée adaptée à 23°5 (= lignée 23°5 + 18°) d'autre part

Durée élevage à 18°	Durée élevage à 23°5	Généra- tions étudiées à 24°	NOMBRE DE GENITEURS			NOMBRE DE DESCENDANTS		FECONDITES MOYENNES			FECONDITE MAXIMUM		
			18° + 24°		Total	23°5 + 24°		18° + 24°	23°5 + 24°	18° + 24°	23°5 + 24°	18° + 24°	23°5 + 24°
			Total	% de stériles		Total	% de stériles						
1040e	93e	G ₁	29	97	17	41	1	0,03 ± 0,00	4,1 ± 2,0	1	12		
		G ₂	1	100	43	58	0	0	1,5 ± 0,8	0	8		
		G ₃			57	78			0,5 ± 0,4		4		
		G ₄			13	77			0,4 ± 0,5		3		
		G ₅			5	100			0		0		

Durée élevage à 18°	Durée élevage à 23°5	Généra- tions étudiées à 24°5	NOMBRE DE GENITEURS			NOMBRE DE DESCENDANTS		FECONDITES MOYENNES			FECONDITE MAXIMUM		
			18° + 24°5		Total	23°5 + 24°5		18° + 24°5	23°5 + 24°5	18° + 24°5	23°5 + 24°5	18° + 24°5	23°5 + 24°5
			Total	% de stériles		Total	% de stériles						
1043e	97e	G ₁	35	100	44	60	111	0	2,5 ± 1,0	0	14		
		G ₂			36	0	0		0		0		

TABLEAU I-6

Comparaison à 24° et 24°5 de la fécondité, d'une part de la souche transférée à partir de 18°
(= 18° + 24° et 18° + 24°5), d'autre part de la lignée adaptée à 23°5 (23°5 + 24° et 23°5 + 24°5) -
Milieu 2,3 S - modalité expérimentale I

la température élevée. Cette variabilité importante semble de règle lorsque des organismes sont soumis à des conditions défavorables (L'HERITIER 1957 ; BROWN 1959 ; DAVID 1962).

2) LA FECONDITE A LA TEMPERATURE D'ORIGINE (18°)

Au cours d'un certain nombre d'expériences, on a comparé à 18° la fécondité de la souche amintenne à cette température d'une part, à celle d'animaux provenant de souches adaptées à des températures plus élevées d'autre part. Le tableau I - 4 donne quelques résultats intéressant les deux premières générations de retour. Le tableau I - 5 fournit le détail de deux expériences intéressant les quatre premières générations du retour de 23°5 à 18° ; on y trouvera également les données groupées d'un ensemble d'expériences du même genre. Les résultats apparaissent extrêmement homogènes.

On constate que les géniteurs adaptés à des températures élevées sont doués, lorsqu'ils sont ramenés à basse température, d'une fécondité nettement supérieure à celle de la souche d'origine. Cette fécondité plus élevée paraît se maintenir au moins durant les premières générations de retour à températures inférieures.

D'autre part on n'observe pas de différence évidente à cet égard entre les lignées adaptées à diverses températures élevées, pas plus qu'entre les souches maintenues depuis des durées plus ou moins longues, à température élevée.

3) LA FECONDITE AUX TEMPERATURES DEPASSANT LA TEMPERATURE D'ADAPTATION

Je me limiterai volontairement ici - car le problème sera repris plus loin - à la comparaison du comportement des Nématodes provenant de la souche maintenue à 18° d'une part, de la lignée adaptée à 23°5 d'autre part, aux températures de 24 et 24°5 (tableau I - 6).

- Les Nématodes adaptés à la température de 23°5 sont nettement plus féconds que ceux provenant de 18° : à 24°, ces derniers sont totalement stériles dès la 2ème génération tandis que la stérilité intervient seulement à la 5ème génération pour la souche adaptée à 23°5. A 24°5, cette dernière se maintient pendant deux générations alors que les animaux provenant de 18° sont incapables de se reproduire.

4) CONCLUSIONS

Il apparaît, en définitive, que le degré d'adaptation ou d'inadaptation d'une souche à une température élevée se traduit par un certain nombre de caractères :

1 - La souche adaptée à une température élevée peut être indéfiniment cultivée à cette température tandis que, dans les mêmes conditions, les souches non adaptées sont condamnées à s'éteindre.

2 - Une souche adaptée à une température élevée possède une fécondité intrinsèque plus importante que celle d'une souche non adaptée. Cette fécondité plus importante se manifeste quelle que soit la température à laquelle est effectuée la comparaison.

3 - Lorsqu'on porte une souche à une température supérieure à sa température d'adaptation, la stérilité peut intervenir - mais ce n'est pas toujours le cas comme nous le verrons dans le chapitre suivant - après un certain nombre de générations. Ce nombre est, généralement, d'autant plus faible que la différence est plus grande entre la température d'adaptation de la souche et la température d'expérience.

CHAPITRE II - LE DEVELOPPEMENT DE L'ADAPTATION

I - OBTENTION DES FORMES ADAPTEES

Les formes adaptées aux températures élevées ont été obtenues grâce à la méthode d'accoutumance "pas à pas". L'ensemble des opérations est schématisé dans la figure I - 4.

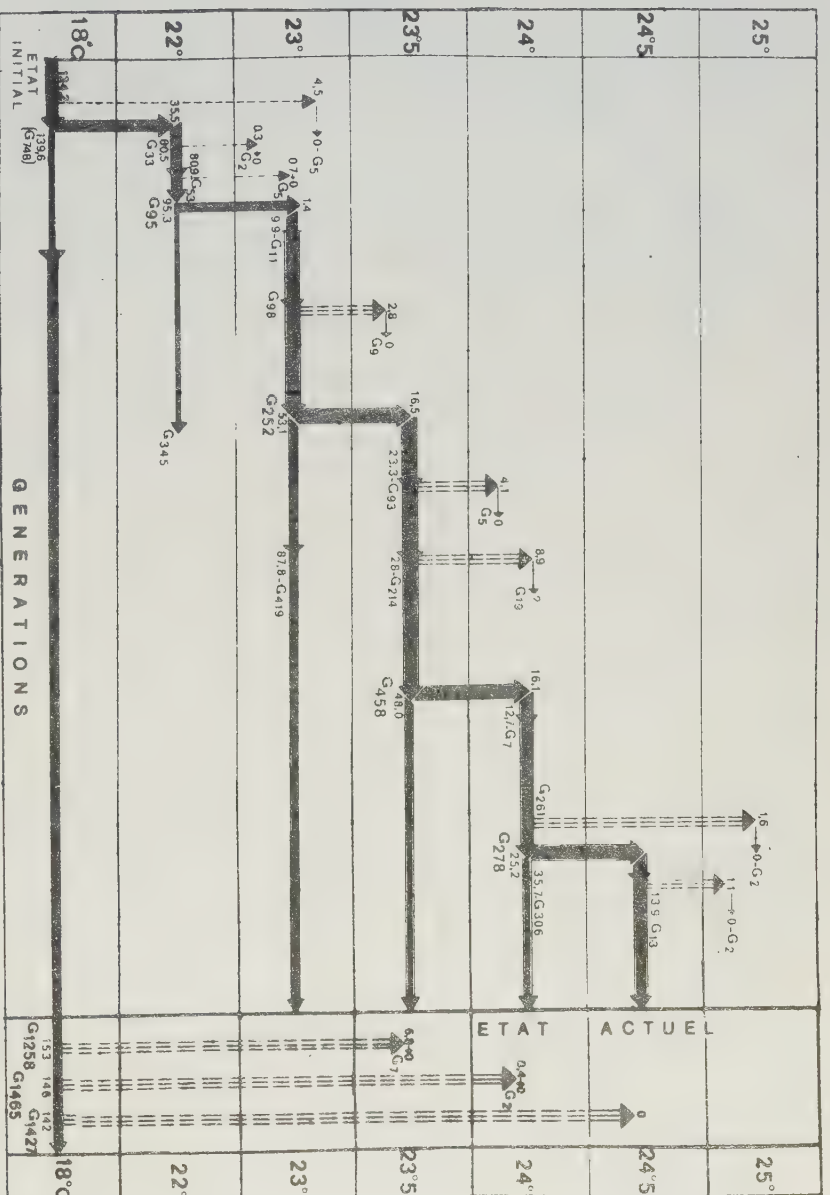
Dans une première étape, les Nématodes prélevés à 18° ont été transportés à 22° - qui n'est pas une température stérilisante même sur milieu S + L. Ils y sont demeurés de nombreuses générations, tandis que divers essais de transfert à 23° ont été entrepris. D'abord infructueuses, ces tentatives ont fourni, à la 95ème génération de culture à 22°, une souche qui s'est perpétuée avec succès à 23°. Des opérations similaires - bien que réalisées sur milieu différent :

Sur milieu S + L Sur milieu 2,3 S

Sur milieu S + L Sur milieu 2,3 S

(certains transferts en milieu 2,3 S, non suivis d'adaptation, ont été groupés sur le côté droit de la figure)

Les indications (G_x) indiquent le nombre de générations (x) à la température considérée. Les autres



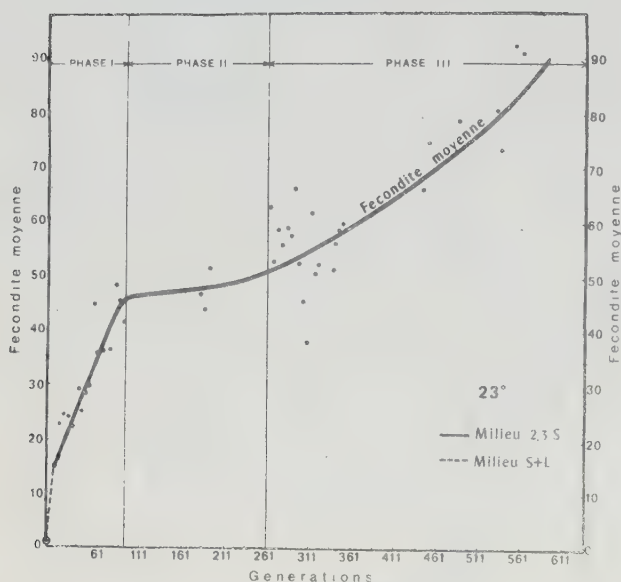


fig. I - 5 a

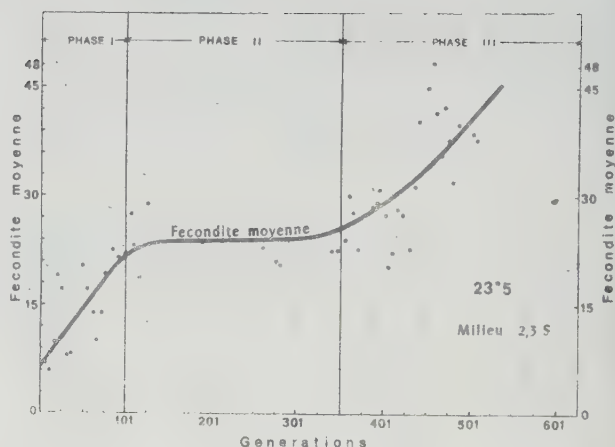


fig. I - 5 b

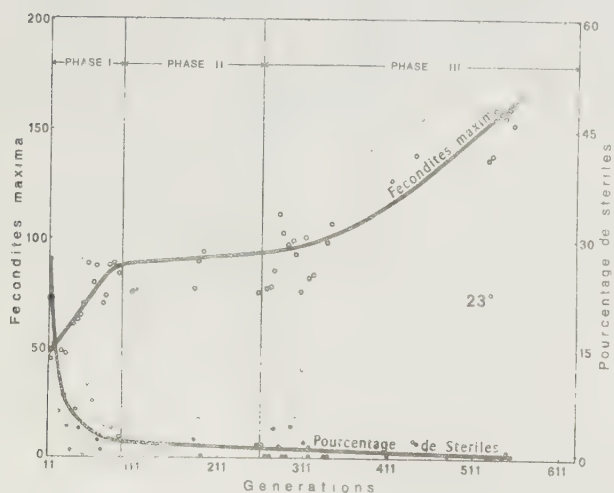


fig. I - 5 c

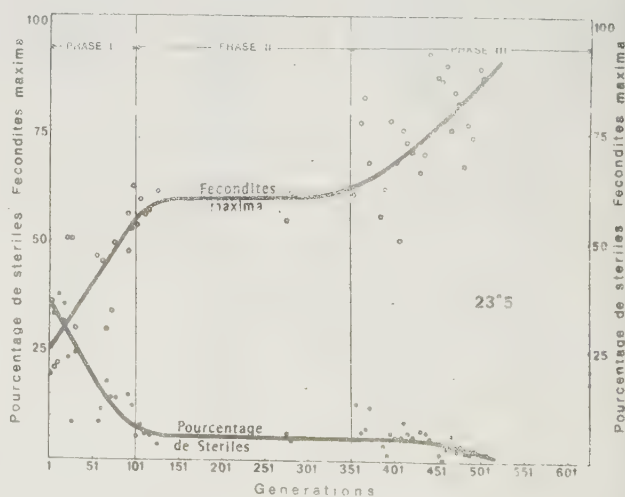


fig. I - 5 d

FIGURE I - 5 - Evolution de la fécondité moyenne (fig. I-5a et I-5b) de la fécondité maximum et du % de stériles (fig. I-5c et I-5d) à 23 et 23.5°.

Chaque point représente un chiffre moyen calculé sur 5 générations successives

- A 23°, les parents de la génération 1 étaient adaptés à la température de 22° depuis 95 générations. Prélevée sur milieu S+L, leur descendance a été maintenue pendant les 10 premières générations à 23° sur ce même milieu. Puis l'élevage s'est poursuivi sur milieu 2,3 S.
- A 23.5°, les parents de la génération 1 étaient adaptés à la température de 23° depuis 252 générations (milieu 2,3 S).

2,3 S - ont permis ensuite de porter les Nématodes à 23°5 d'abord, puis à 24°, enfin à 24°5.

II - LES CONDITIONS DE L'ADAPTATION

A - INFLUENCE DE LA DUREE D'ELEVAGE A UNE TEMPERATURE NOUVELLEMENT SUPPORTEE SUR LE DEGRE D'ADAPTATION DES NEMATODES

Le comportement des Nématodes a été suivi pendant de nombreuses générations à chacune des étapes de l'adaptation. C'est à 23° et 23°5 que les observations ont été les plus prolongées - respectivement pendant 560 et 511 générations.

1) CARACTERISTIQUES GENERALES

Dans un premier temps, il est commode de suivre, dans leur allure générale, l'évolution des paramètres de fécondité en calculant des valeurs moyennes sur cinq générations successives. La figure I - 5 donne les résultats de ce calcul pour les adaptations à 23° et 23°5, dans l'ensemble des lignées étudiées. Dans tous les cas, trois phases se succèdent :

- Phase I : Elle s'étend approximativement sur les 100 premières générations d'élevage à la nouvelle température. Elle est marquée par une augmentation relativement rapide de la fécondité tandis que, corrélativement, les cas de stérilité diminuent.

- Phase II : Comprise entre les générations 100 à 250-350, elle correspond à une stabilisation de la fécondité et du pourcentage de stériles.

- Phase III : Au-delà de la 300ème génération, l'accroissement de fécondité reprend alors que la stérilité tend à disparaître.

2) L'EVOLUTION DE LA FECONDITE LORS DE LA PHASE I

Le groupement des données effectué au paragraphe précédent fait évidemment disparaître certaines informations. Celles-ci réapparaissent si l'on exa-

mine les résultats génération par génération. Cette analyse plus précise s'avère particulièrement nécessaire au cours de la phase I dans laquelle elle révèle la présence d'un instant critique. La figure I - 6 apporte les résultats, encore groupés par trois générations successives, du passage $18^{\circ} \rightarrow 22^{\circ}$. Les figures I - 7 et I - 8 donnent les résultats génération par génération des passages respectifs à 23° , $23^{\circ}5$, et $24^{\circ}5$. Sur la figure I - 7 on a tenté en outre de réduire la variabilité sans trop perdre d'information, en employant le calcul des moyennes mobiles.

Une constatation s'impose : si, jusqu'à la 100ème génération, l'augmentation de fécondité est indéniable, celle-ci ne se réalise pas de façon régulièrement progressive :

- a) Tout d'abord, on constate - sauf en ce qui concerne 23° car l'analyse n'y débute qu'à la 11ème génération - que l'adaptation des Nématodes s'amorce toujours par une période relativement brève de sensibilisation (= Phase I_A). Celle-ci s'étale sur les 10 à 15 premières générations et correspond à une diminution de la fécondité qui tombe à un niveau inférieur à celui de la première génération. Ceci est particulièrement net à $24^{\circ}5$ (fig. I - 8). Cette phase de sensibilisation I_A se présente donc, en fait, comme l'étale-ment, sur un nombre de générations plus important, de la phase critique - dont nous avons vu l'extension variable au chapitre précédent - au cours de laquelle les Nématodes, incapables de se maintenir aux températures élevées, y subsistent cependant quelque temps. En définitive, les Nématodes s'adaptent lorsqu'ils sont en mesure de dépasser la phase critique inhérente à tout transfert depuis les conditions habituelles d'élevage jusqu'à une température plus élevée.
- b) Au-delà de cette phase I_A, on constate une augmentation saccadée des valeurs correspondant, d'une part aux plus fortes fécondités, d'autre part aux fécondités les plus faibles. Ceci conduit à penser à l'existence d'une certaine périodicité dans le comportement des Nématodes. C'est la conclusion à laquelle on arrive d'ailleurs si l'on essaie de représenter l'évolution de la fécondité à 23° et $23^{\circ}5$ en utilisant le procédé des moyennes mobiles. En effet, que l'on emploie des cycles de 3, 5, 7 ou même 9 générations (fig. I - 7 et fig. I - 9) on retrouve toujours les mêmes pointes de progression de la fécondité.

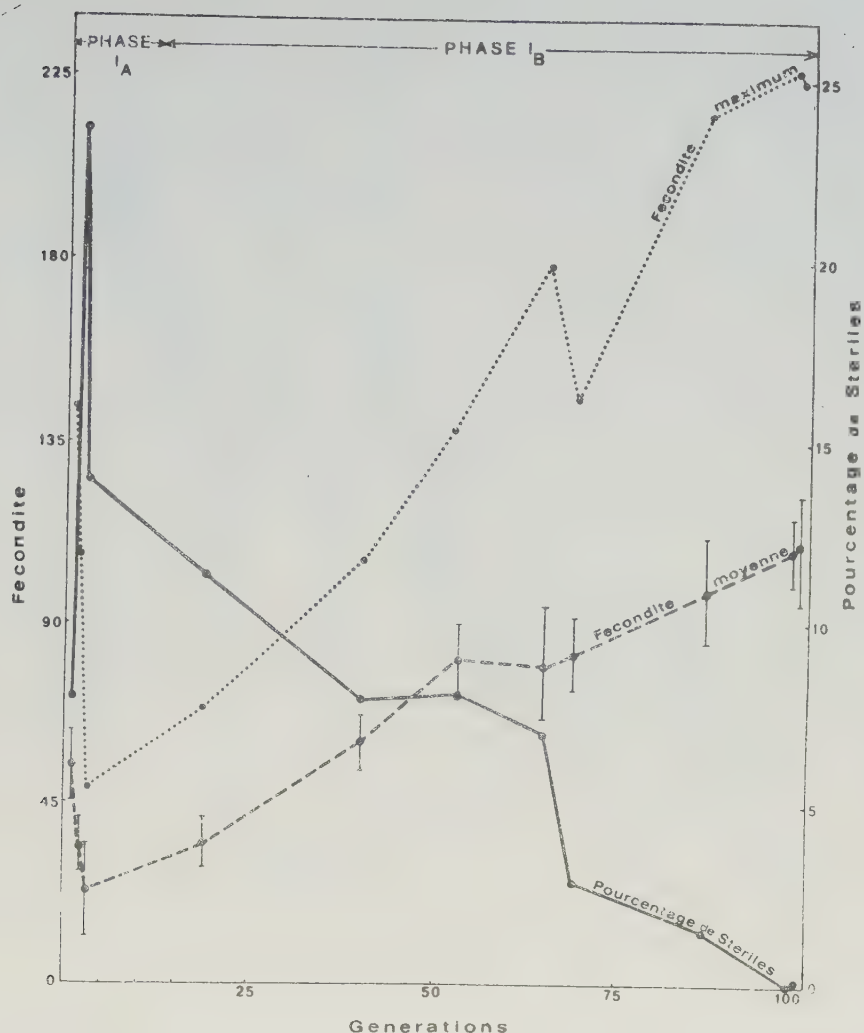


FIGURE I - 6 : PASSAGE 18 → 22° SUR MILIEU S + L

Evolution de la fécondité moyenne

.....

Evolution de la fécondité maximum

—————

Evolution du pourcentage des stériles

Chaque point représente la moyenne de 3 expériences (modalité expérimentale II). Les parents de la génération 1 étaient élevés à 18° depuis 798, 808 et 826 générations sur milieu S + L

|

• Intervalle de confiance pour un risque de 5%

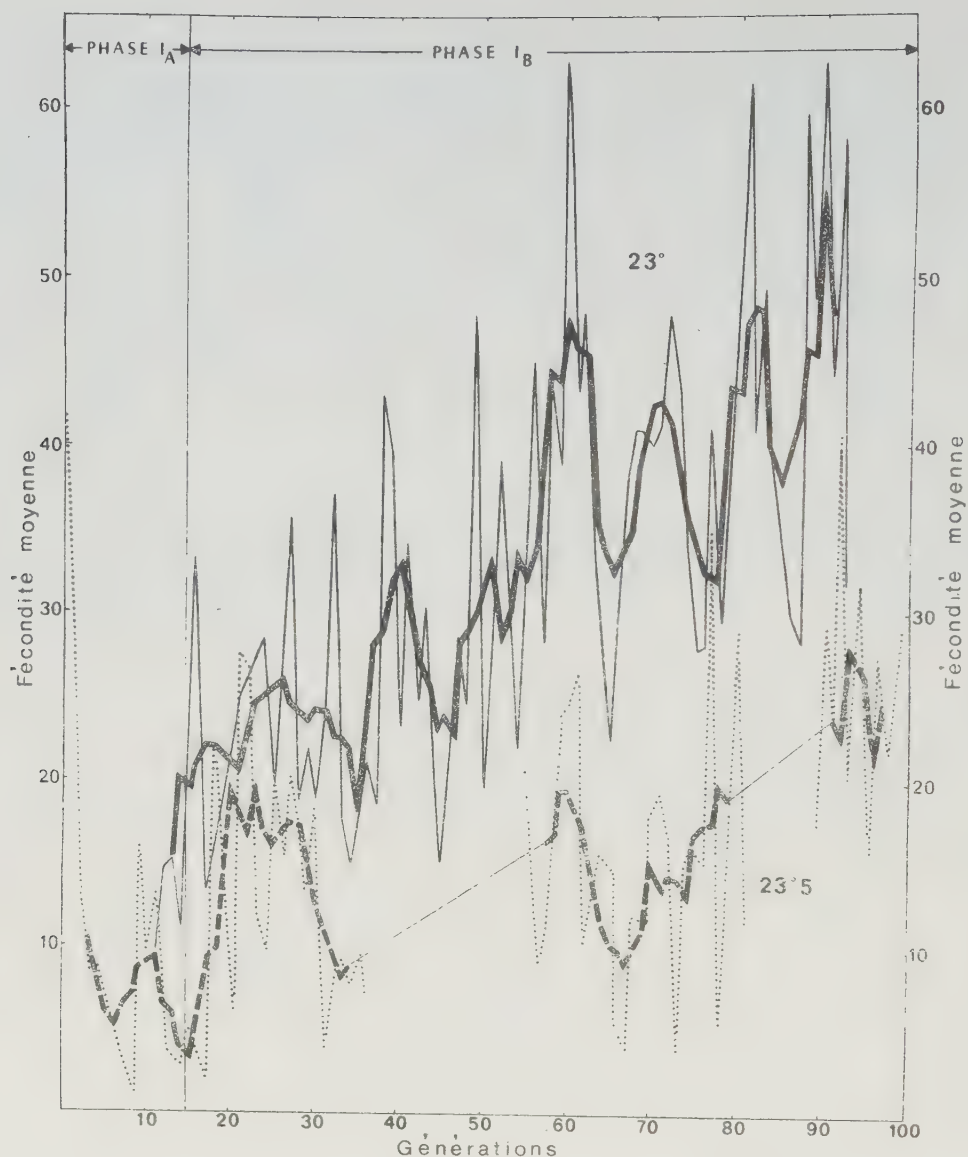


FIGURE I - 7 : EVOLUTION DE LA FECONDITE MOYENNE GENERALE EN FONCTION DES GENERATIONS SUCCESSIVES, AU COURS DE LA PHASE I (cf. fig. I - 5)

22 → 23°	{	—————	Résultats bruts sur milieu nutritif 2,3 S
		-----	Procédé des moyennes mobiles (cycle de 5)
23 → 23°5	{		Résultats bruts sur milieu 2,3 S
		-----	Procédé des moyennes mobiles (cycle de 5)

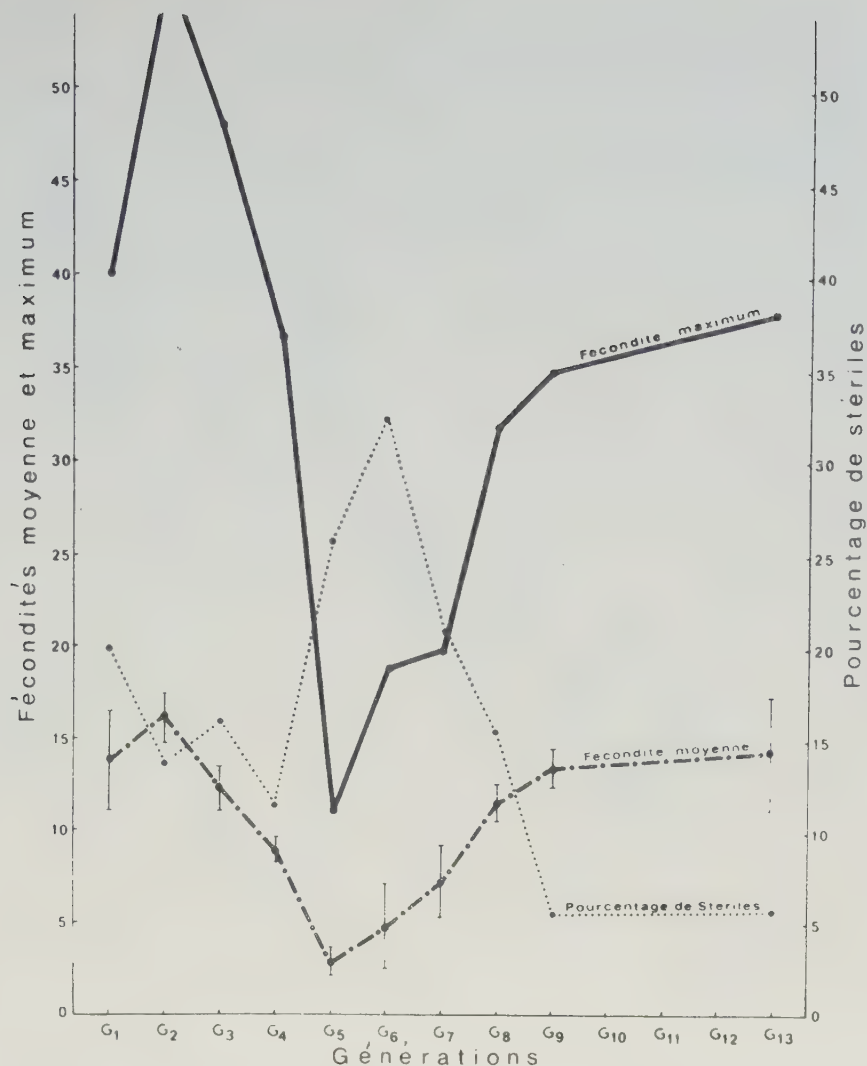


FIGURE I - 8 : PASSAGE 24 → 24°5 SUR MILIEU 2,3 S (MODALITE EXPERIMENTALE I)

- · — · — Evolution de la fécondité moyenne
- Evolution de la fécondité maximum
- Evolution du pourcentage de stériles

Les parents de la génération 1 étaient adaptés à la température de 24° depuis 278 générations

 Intervalle de confiance pour un risque de 5%

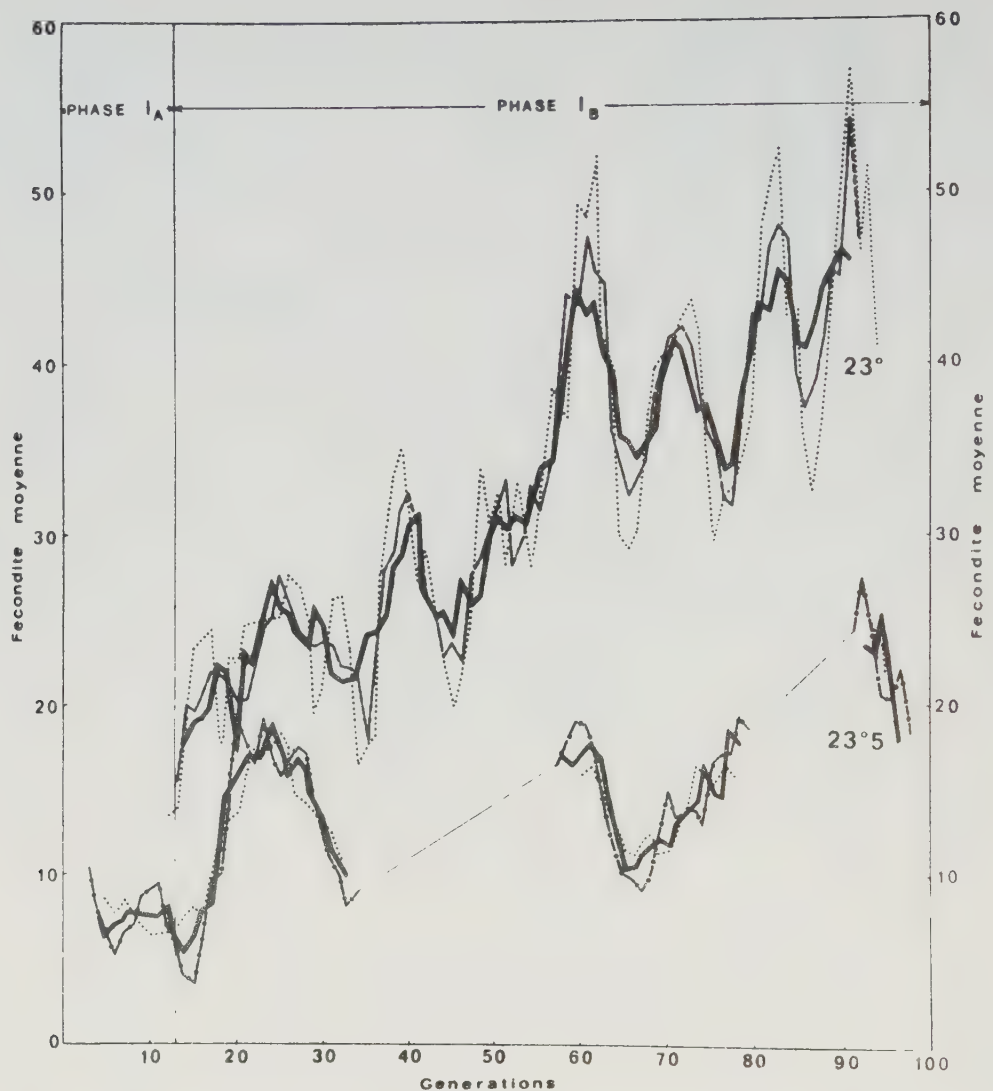


FIGURE I - 9

22 + 23° EVOLUTION DE LA FECONDITE MOYENNE (PROCEDE DES MOYENNES MOBILES)

— Cycle de 7
 — Cycle de 5
 Cycle de 3

23 + 23°5 EVOLUTION DE LA FECONDITE MOYENNE (PROCEDE DES MOYENNES MOBILES)

— Cycle de 7
 —●— Cycle de 5
 Cycle de 9

Fécondité moyenne à la température
de prélèvement

Fécondité moyenne obtenue après la
durée maximum d'élevage étudiée à
la température d'adaptation

22° sur S + L : 97,8 (87e génération)

23° sur 2,3 S : 93,1 (546 à 550e
génération)

23° sur 2,3 S : 50,5 (251 à 256e
génération)

23°5 sur 2,3 S : 37,4 (506 à 510e
génération)

T A B L E A U I-7

Comparaison de la fécondité moyenne des Nématodes lors de leur prélèvement et après
adaptation poussée à 23 et 23°5.

DUREE D'ELEVAGE A 23°5	FECONDITE MOYENNE DES GENERATIONS SUCCESSIVES A 24°							
	G ₁	G ₂	G ₃	G ₄	G ₅	G ₆	G ₇	G ₈
93e génération	4,1	1,5	0,5	0,4	0			
G 214	8,9	4,5	1,6	4,3	0,9	2,8	0	
G 306	6,1	21,4	20,5	18,8		11,3	12,6	6,4
								Jusqu'à 19° génération →
G 458	16,1			17,6			12,7	
								Actuellement → 450 générat.

T A B L E A U I-8

Fécondité moyenne, à 24°, des Nématodes prélevés à 23°5 après un élevage
prolongé à cette température pendant, respectivement 93, 214, 306 et 458 générations.

- à 23° C, elles correspondent, grosso modo, aux générations 25, 40, 50, 60, 70, 80, 90 (périodicité de 10 générations ?)

- à 23°5 C, les données moins nombreuses ne permettent qu'une approximation : générations 10, 25 ... 60, 75, 90 (périodicité de 15 générations ?).

3) CONCLUSION

Lorsque l'élevage de C. elegans à une température élevée nouvellement supportée se prolonge pendant de très nombreuses générations, le comportement des Nématodes, d'abord perturbé, va en s'améliorant avec le temps. L'augmentation progressive des fécondités moyenne et maximum, la régression nette des cas de stérilité, font que les Nématodes tendent incontestablement à retrouver le comportement qui les caractérisait aux températures de prélèvement. Le tableau I - 7 le démontre à propos de la fécondité moyenne.

B - INFLUENCE DE LA TEMPERATURE DE CULTURE ET DE LA DUREE D'ELEVAGE A CETTE TEMPERATURE SUR LES POSSIBILITES D'ADAPTATION A UNE TEMPERATURE SUPERIEURE

Nous avons vu dans le chapitre I que lorsqu'on porte une souche à une température supérieure à sa température d'adaptation, cette souche voit sa fertilité décroître et finit par s'éteindre. Dans le paragraphe précédent, nous avons constaté que l'adaptation elle-même comporte une première phase de fécondité décroissante (Phase I_A) relayée ensuite par une phase de fécondité croissante qui permet à la souche d'échapper à l'extinction et signe véritablement le début de l'adaptation. Il nous faut considérer maintenant dans quelles conditions on peut observer l'un ou l'autre des effets précédents, extinction ou adaptation. Il s'avèrera que, pour des conditions identiques de milieu et de température, les possibilités d'adaptation dépendent étroitement des conditions rencontrées par les animaux pendant les générations qui ont précédé l'expérience.

Le tableau I - 8 montre la fécondité à 24° d'animaux prélevés à 23°5. On voit que dans ces expériences la 93ème génération à 23°5 s'éteint après 5 générations à 24°. La 214ème génération s'éteint à la 7ème génération tandis que la 306ème génération persiste jusqu'à la 19ème génération. La 458ème génération a permis une fertilité constante et s'est acclimatée à 24°.

Les figures I - 10 et I - 11 rapportent les résultats d'expériences dans lesquelles on a tenu compte, à la fois, de la température de départ, de la durée d'élevage à cette température et de la température élevée à laquelle on essaie de maintenir les Nématodes. On constate que la fécondité moyenne des générations qui suivent l'élévation de température est d'autant plus forte que la température de prélèvement est plus proche de la température d'expérience et que les animaux ont été maintenus plus longtemps à cette température de prélèvement.

On voit également - et une constatation du même ordre peut être faite à 23 et à 24°5 (fig. I - 4) - que l'acclimatation des Nématodes à 23°5 et 24° réussit si l'on prélève les animaux à 23° dans le premier cas, à 23°5 dans le second, alors qu'elle demeure impossible à partir de 14 à 18°. Cependant, il est nécessaire que les animaux soient prélevés après une très longue durée d'élevage aux températures adéquates pour qu'il se produise une accoutumance : 95 générations à 22° d'une part, 252 générations à 23° d'autre part, 458 générations en ce qui concerne 23°5, enfin 278 générations à 24° (fig. I - 4).

Il apparaît donc que le nombre de générations pendant lesquelles C. elegans peut se maintenir aux températures élevées est d'autant plus grand que

- a) la température à laquelle sont prélevés les Nématodes est plus élevée et plus proche de la température à supporter ;
- b) le nombre de générations passées à cette température de prélèvement est plus grand.

La phase d'acclimatation commence lorsque le nombre de générations supportées s'accroît. Il en résulte que, en dessous d'un certain seuil de température et de durée, l'acclimatation à une température plus élevée est totalement impossible.

CHAPITRE III - LA REPRODUCTIBILITE DES EXPERIENCES

Malgré leur longueur, la plupart des expériences ont été répétées sur un

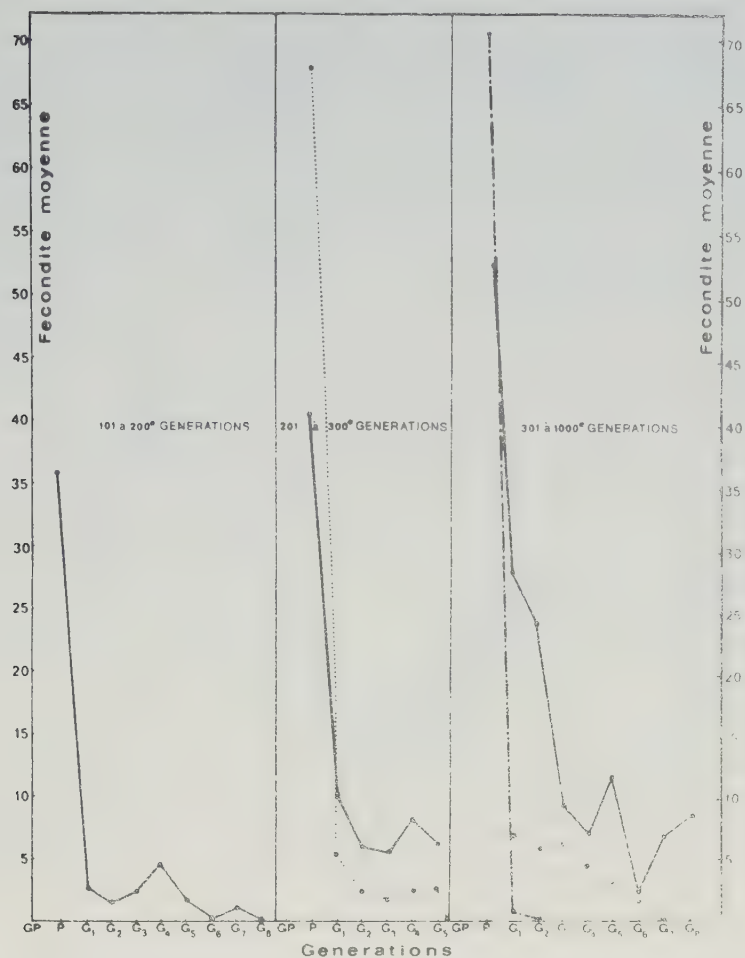


FIGURE I - 10 : A 23°5, SUR MILIEU 2,3 S, FECONDITE MOYENNE DES GENERATIONS CORRESPONDANTES DE NEMATODES PRELEVES A DIFFERENTES PERIODES DE LEUR CULTURE A 14, 18 ET 23° (VOIR TABLEAU I - 10)

— • — • — • — Souche prélevée à 14°
 Souche prélevée à 18°
 ———— Souche prélevée à 23°

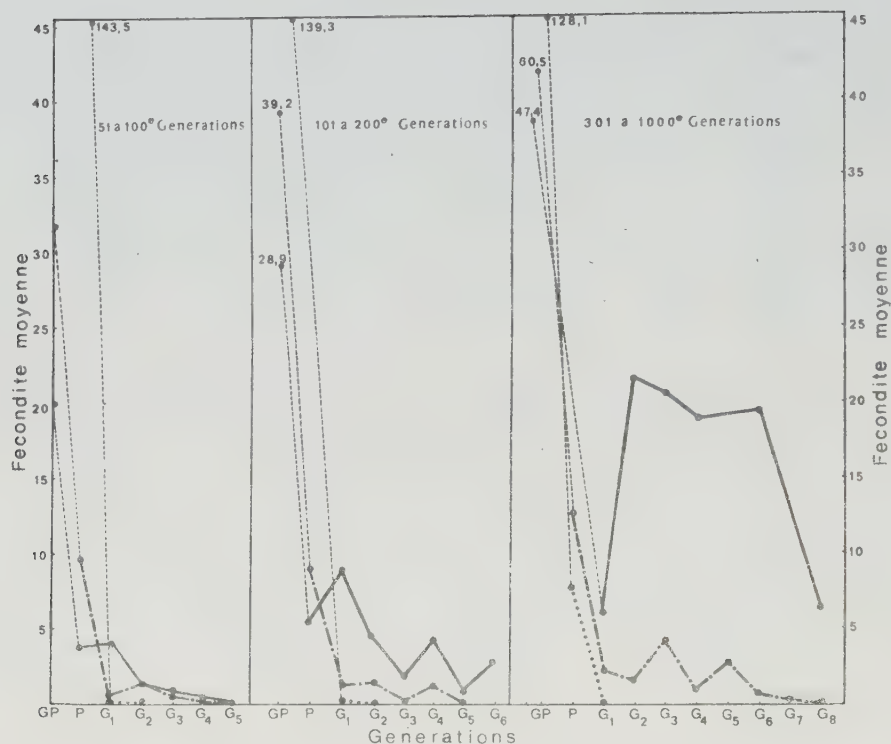


FIGURE I - 11 : A 24°, SUR MILIEU 2,3 S, FECONDITE MOYENNE DES GENERATIONS CORRESPONDANTES DE NEMATODES PRELEVEES A DIFFERENTES PERIODES DE LEUR CULTURE A 18, 23 et 23°5 (voir tableau I - 10)

●●●●●●●●

Souche prélevée à 18°

—●—●—●—

Souche prélevée à 23°

—●—●—●—

Souche prélevée à 23°5

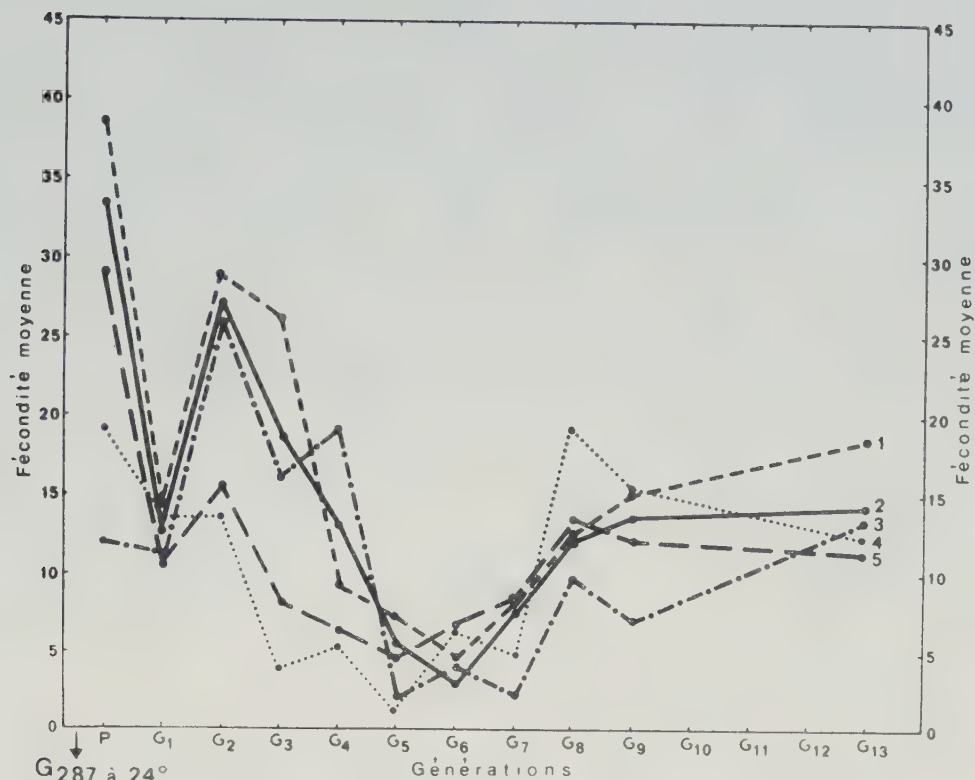


FIGURE I - 12 : EVOLUTION DE LA FECONDITE MOYENNE DES GENERATIONS SUCCESSIVES ISSUES DE TRANSFERTS $24 \rightarrow 24^{\circ}5$

Le comportement de cinq lignées différentes a été considéré. Nombre moyen de reproducteurs par lignée et par génération : 17,8

(Milieu 2,3 S ; modalité expérimentale II)

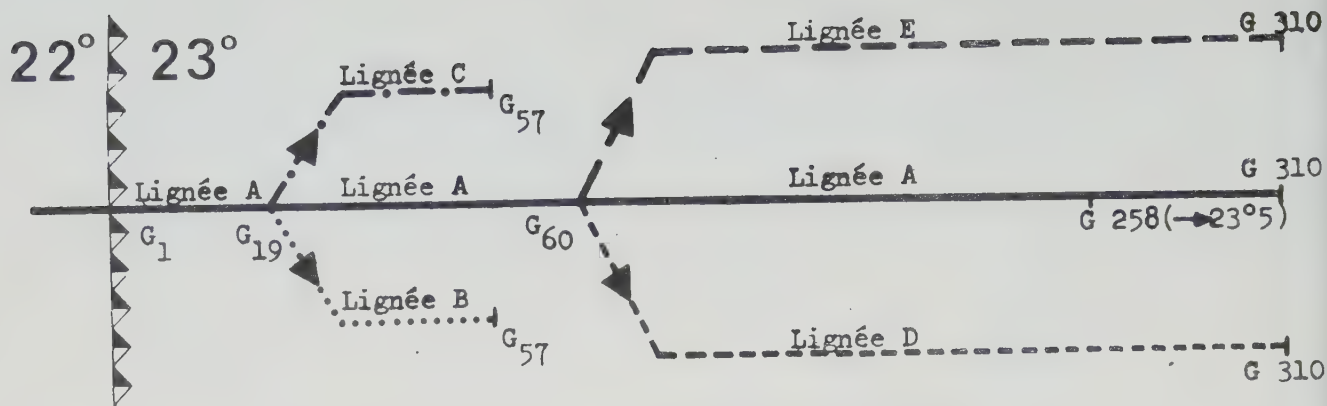


Fig. I - 13a : 23°

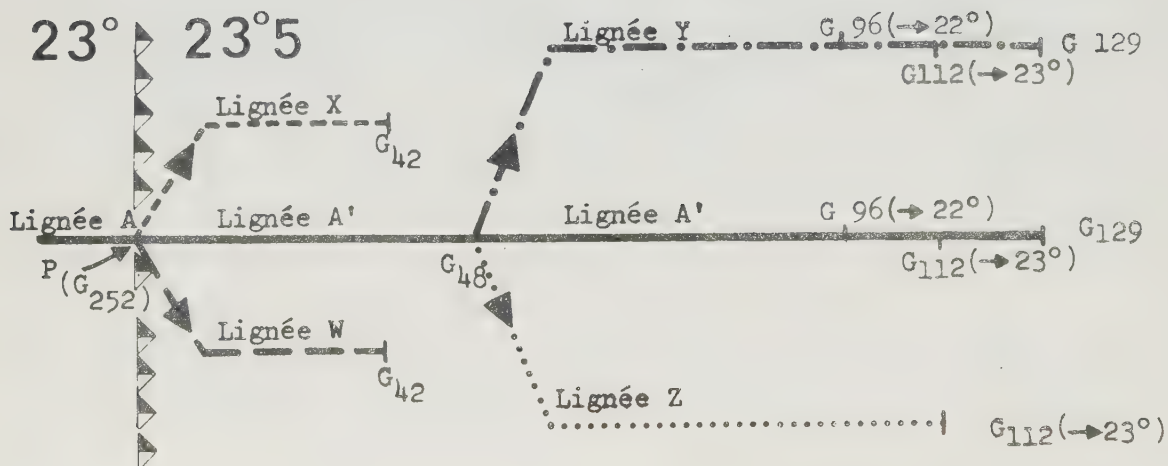


Fig. I - 13b : 23°5

FIGURE I - 13 : ARBRES GENEALOGIQUES DEFINISSANT L'ORIGINE ET LE MAINTIEN DE LIGNEES DE NEMATODES ELEVEES PARALLELEMENT PENDANT UN GRAND NOMBRE DE GENERATIONS A 23 ET A 23°5

- G₉₆ (→ 22°) : Au niveau de la 96ème génération, une partie des animaux de la lignée considérée a été transférée à 22°.
- Les propriétés de ces diverses lignées sont explicitées sur les fig. I-14 à I-17, avec une typographie identique.

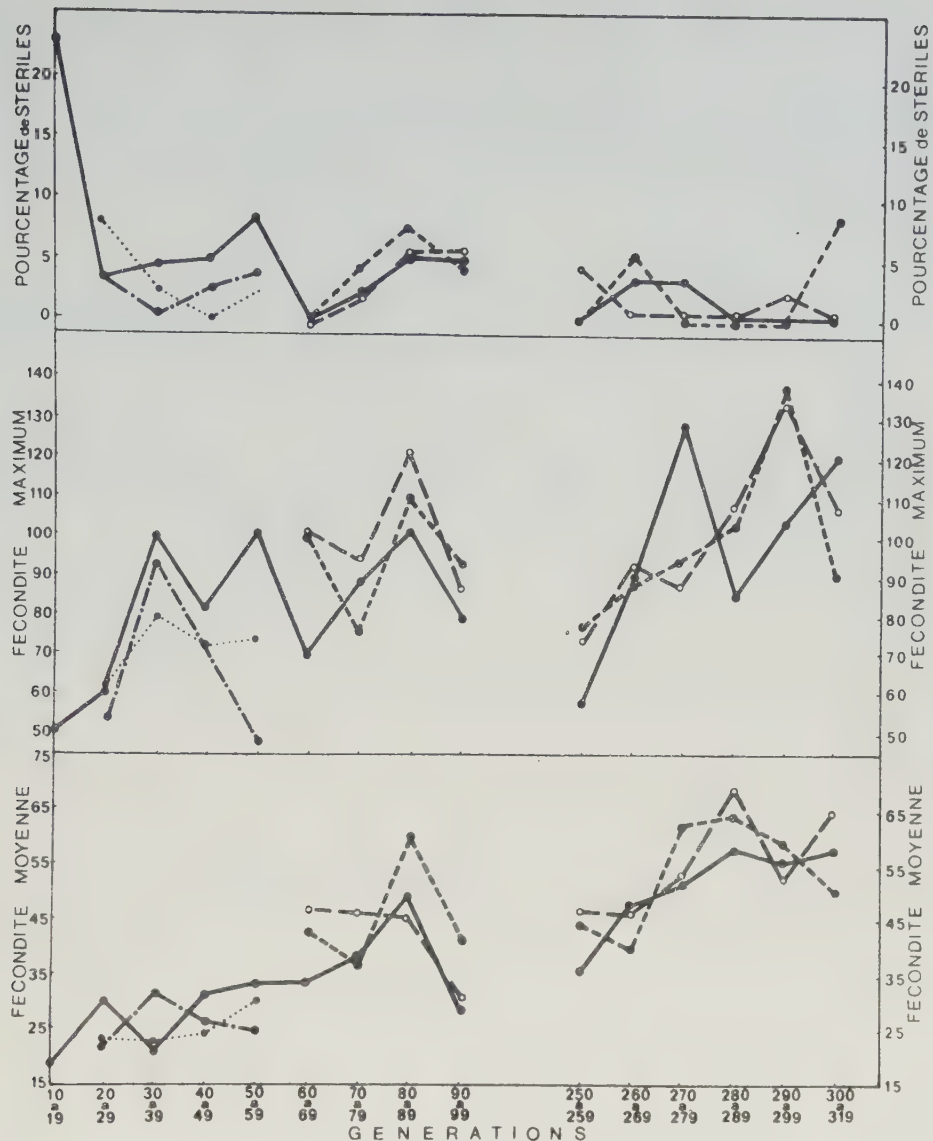


FIGURE I - 14 : 23° - VARIATIONS DES FECONDITES MOYENNES ET MAXIMA, DU POURCENTAGE DE STERILES, DES GROUPES SUCCESSIFS DE 10 GENERATIONS DES LIGNEES SUIVANTES :

- Lignée A
- Lignée B
- · - · - Lignée C (cf. arbre généalogique fig. I-13 a)
- Lignée D
- Lignée E

- Milieu 2,3 S - Modalité expérimentale II

- Nombre moyen de géniteurs pour chaque lignée et à chaque génération : 3,6

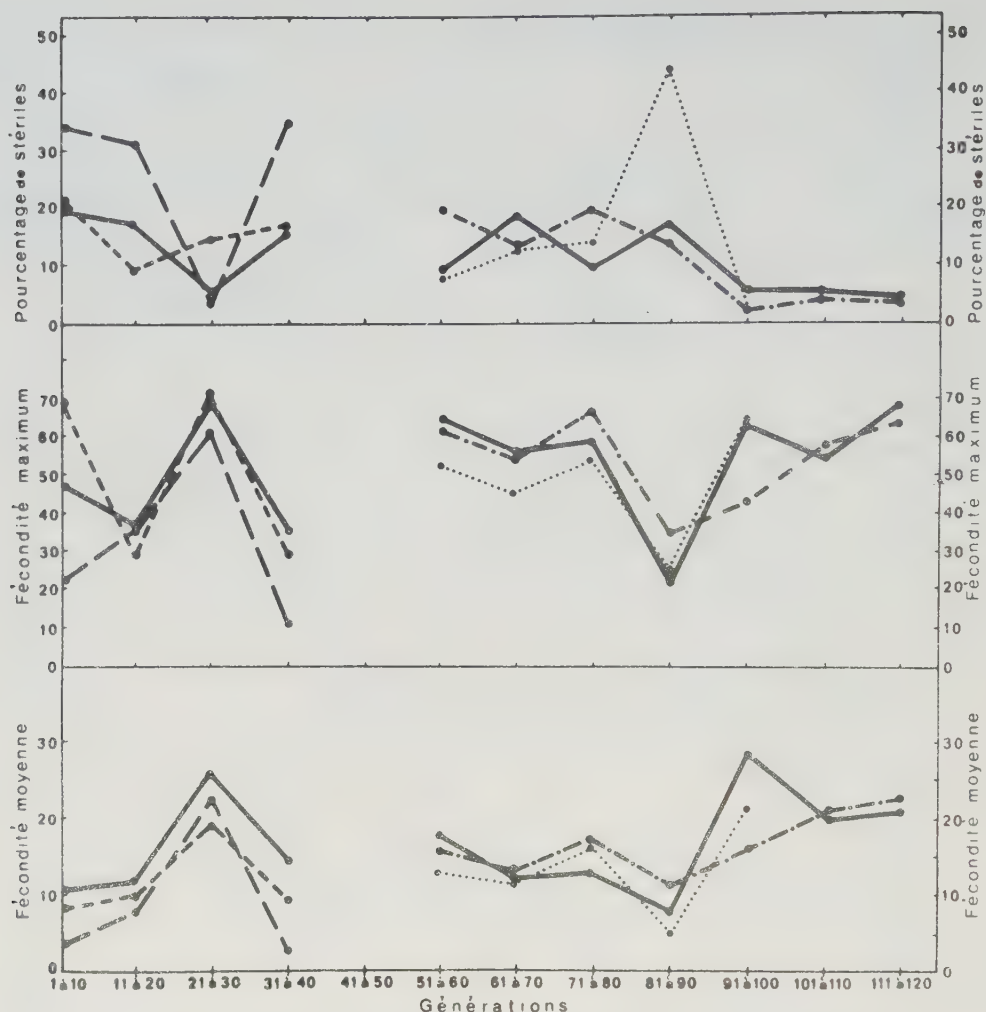


FIG I - 15 - 23°5 : VARIATIONS DES FECONDITES MOYENNES ET MAXIMA, DU POURCENTAGE DE STERILES DES GROUPES SUCCESSIFS DE 10 GENERATIONS DES LIGNEES SUIVANTES

- Lignée A'
- - - Lignée X
- . - Lignée W (cf. arbre généalogique fig. I-13 b)
- . . . Lignée Y
- Lignée Z

- Milieu 2,3 S. Modalité expérimentale II. Nombre moyen de géniteurs pour chaque lignée et à chaque génération : 3,6

nombre plus ou moins grand de générations. J'examinerai ici les résultats analogues obtenus dans les diverses situations auxquelles ont été soumis les Nématodes.

1) TRANSFERT A UNE TEMPERATURE PLUS ELEVEE

A 24° , par exemple, cinq lignées différentes ont été élevées séparément de la 222ème à 287ème générations. A ce niveau, au même moment et dans les mêmes conditions, elles ont été placées à $24^{\circ}5$ où elles ont été suivies pendant les 13 premières générations. Comme l'indique la figure I - 12, le comportement des diverses lignées est fort similaire et montre bien la signification de la phase critique qui survient au cours du processus d'accoutumance.

2) ELEVAGES DE LONGUE DUREE A TEMPERATURE ELEVEE

Dans ce cas, le poids de l'expérimentation ne permet de considérer qu'un petit nombre de reproducteurs pour chacune des lignées élevées parallèlement. Malgré l'accroissement de variabilité qui en découle, on retrouve cependant une incontestable analogie dans la reproduction des Nématodes.

A 23° et à $23^{\circ}5$, des lignées parallèles ont été maintenues pendant un certain nombre de générations. La figure I - 13 représente seulement les arbres généalogiques des lignées le plus longuement suivies. L'évolution de la fécondité dans ces lignées est exprimée par les graphiques des figures I - 14 et I - 15. Chaque point correspond à la moyenne des observations effectuées sur 10 générations successives.

On constate l'absence de divergences caractérisées dans le comportement des différentes lignées. Des écarts importants se manifestent parfois mais ils ne se perpétuent jamais : ils doivent être considérés comme accidentels, amplifiés d'ailleurs par suite du petit nombre de géniteurs.

3) DESCENTES A DES TEMPERATURES INFERIEURES

Certaines des lignées étudiées ci-dessus à 23°5 ont été ramenées à 22° et 23° où leurs cultures ont été poursuivies parallèlement. L'évolution des fécondités est donnée dans les figures I - 16 et I - 17.

Ici encore, le comportement des lignées est manifestement analogue, surtout à 22°. A 23°, si on compare les fécondités moyennes des différentes générations par le test de t , des différences significatives apparaissent dans trois cas seulement sur neuf. Ces irrégularités peuvent donc être considérées comme accidentelles et exagérées par suite du faible nombre d'animaux repiqués.

C O N C L U S I O N S

Les résultats exposés dans cette première partie montrent que :

- 1°) Lorsqu'une lignée de C. elegans a été adaptée à une température élevée, elle se caractérise par une fécondité toujours plus forte que celle de la souche maintenue constamment dans les conditions habituelles d'élevage, c'est-à-dire à 18°, quelle que soit la température à laquelle les deux lignées sont comparées. L'avantage manifesté par les formes adaptées est d'autant plus grand que la température d'expérience est plus élevée.
- 2°) Le nombre de générations pendant lequel l'élevage d'une lignée est pratiqué à température élevée conditionne
 - a) le degré d'adaptation de cette lignée à cette température ;
 - b) ses possibilités d'accoutumance à des températures plus élevées encore.

Il apparaît donc que l'adaptation résulte d'un effet cumulatif qui

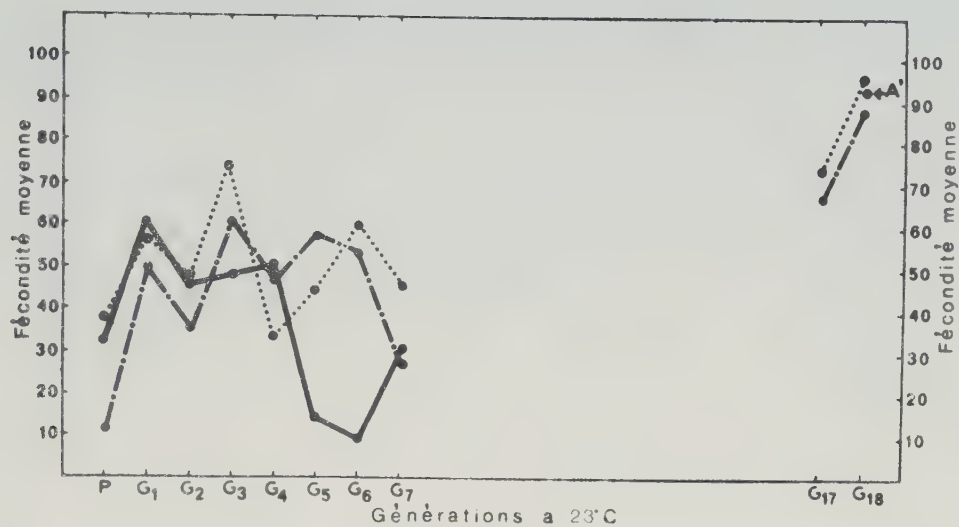


FIGURE I - 16 - DESCENTE 23,5 → 23° - VARIATIONS DE LA FECONDITE MOYENNE DES GENERATIONS SUCCESSIVES DE 3 LIGNEES PARALLELES DESCENDUES A 23°

————— Lignée A'
 - · - · - · Lignée Y (cf. arbre généalogique fig. I - 13 b)
 Lignée Z

- Milieu 2,3 S - Modalité expérimentale II - Nombre moyen de géniteurs pour chaque lignée et à chaque génération : 6,5

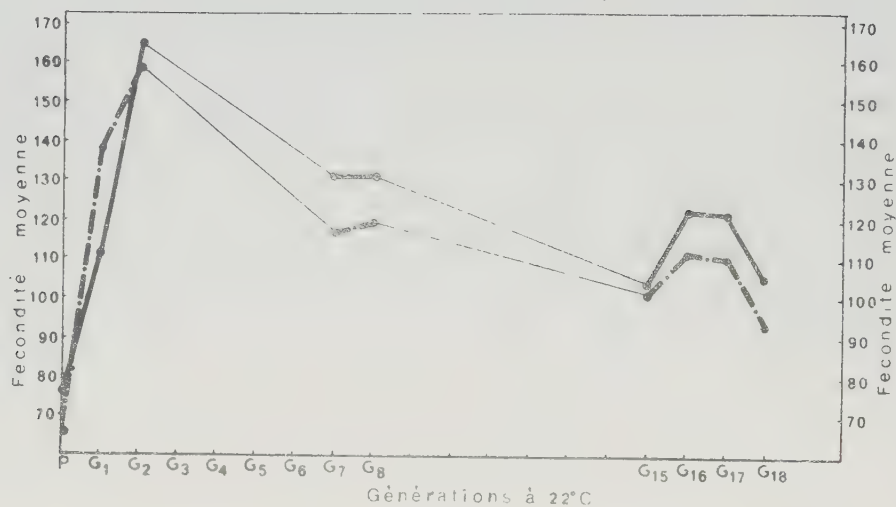


FIGURE I - 17 - DESCENTE 23,5 + 22° - VARIATIONS DE LA FECONDITE MOYENNE
DES GENERATIONS SUCCESSIVES DE 2 LIGNES PARALLELES DESCENDUES A 22°

—————

Lignée A'

- - - - -

Lignée Y

(cf. arbre généalogique fig. I - 13 b)

- Milieu 2,3 S - Modalité expérimentale II.
- Nombre moyen de géniteurs à chaque génération, pour chaque lignée : 11,2

s'exerce dans l'action du facteur température. Cet effet cumulatif comporte le passage par une phase initiale de sensibilisation.

La répétition des expériences, dans des conditions de températures identiques et dans des conditions différentes, montrant que leur reproductibilité est très grande, la relation de cause à effet se trouve établie avec une très forte vraisemblance.

Nous verrons, dans la deuxième partie de ce travail, que ces conclusions sont confirmées par les résultats des expériences entreprises en vue d'examiner la stabilité de l'adaptation ainsi réalisée.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AGAR W.E., 1914. Experiments on inheritance in parthenogenesis. Phil. Trans. R. Soc., 205, 421-489.
- AVERKIEV I.S., 1952. Sur le problème de la sélection d'une nouvelle race de Bombyx du chêne (Antheraea pernyi) par modification du régime alimentaire (en russe). Dokl. vses. Akad. sel'-khoz. Nauk., 8, 37-38.
- BANTA A.M., 1939. Studies on the physiology, genetics and evolution of some Cladocera. Carneg. Inst. Public., n° 513, 285 p.
- BARNETT S.A., 1965. Adaptation of mice to cold. Biol. Rev., 40, 5-51.
- BATEMAN K.C., 1959. The genetic assimilation of the dumpy phenocopy. J. Genet., 56, 341-351.
- BOETTGER C.R., 1956. Beobachtungen an Nachzuchten von Schlamm Schneckenarten (Limnaeidae) in Stämmen verschiedener phänotypischer Herkunft. Proc. XIV Int. Cong. Zool. Copenhagen 1953, 162-172.
- BORZEDOWSKA P., 1963. Transition into a hereditary form of a thermal phenocopy in Drosophila melanogaster. Folia Biol. Krakow, 11, 231-250.
- BROWN A.W.A., 1950. Résistance des Arthropodes aux insecticides. Org. Mond. Santé Genève, n° 38, 260 p.
- BRUN J., 1955. Evolution de la prophase méiotique chez Caenorhabditis elegans Maupas 1900 sous l'influence des températures élevées. Bull. Biol. Fr. Belg., 89, 326-346.
- COLLOQUE SUR LA ZOOTECHNIE DANS LES PAYS TROPICAUX, Gembloux 1960. Bull. Inst. agron. Stns Rech. Gembloux, hors série n° 3, 1295-1332.

- DALLINGER W.H., 1887. The President's address. Jl Roy. microsc. Soc., 1, 185-199.
- DAVID J., 1962. Influence de l'état physiologique des parents sur les caractères des descendants. Etude chez Drosophila melanogaster Meig. Annls Génét., 3, 41-118.
- DEAN A.C.R., HINSHELWOOD C., 1963. Integration of cell reactions. Nature, Lond., 199, 7-11.
- DELAVALT R., 1959. Développement, croissance et fonctionnement des glandes génitales chez les Nématodes libres. Archs Zool. exp. gén., 97, 109-208.
- DIEUDONNE A., 1894. Beiträge zur Kenntnis der Anpassungsfähigkeit der Bakterien an ursprünglich ungünstige Temperaturverhältnisse. Arb. K. GesundhAmt, 9, 492-508.
- DUCLOS P., 1961. L'élevage en Guinée et la structure génétique de la race N'Dama. Bull. Inst. fr. Afr. noire, série A, 23, 896-903.
- EWING H.E., 1916. Eighty-seven generations in a parthenogenetic pure-line of Aphis avenae. Biol. Bull., 31, 53-112.
- FRUWIRTH C., 1917. Selection in pure lines. J. Hered., 8, 90-94.
- HARRISON J.W.H., 1935. The experimental induction of melanism and other effects, in the geometrid moth Selenia bilunaria. Proc. R. Soc. B, 117, 78-92.
- HINSHELWOOD C.N., 1947. The chemical kinetics of the bacterial cell. Clarendon Press, Oxford, 1 vol., 284 p.
- JOHANNSEN W., 1913. Elemente der exakten Erblchkeitslehre. Fischer, Iena, 1 vol., 723 p.
- JOLLOS V., 1921. Experimentelle Protistenstudien. I. Untersuchungen über Variabilität und Vererbung bei Infusorien. Arch. Protistenk., 43, 1-122.

- KLUYVER A.J., BAARS J.K., 1932. On some physiological artefacts. Proc. K. ned. Akad. Wet., série C., 35, 370-378.
- LASHLEY K.S., 1915. Inheritance in the asexual reproduction of Hydra. J. exp. Zool., 19, 157-207.
- LE BERRE J.R., 1960. Le rôle de la sélection et de l'adaptation animales dans l'étude des immunités végétales à l'égard des Insectes. Conf. Scient. Protect. Plantes, Budapest, 271-280.
- L'HERITIER P., 1957. Hérité contagieuse et hérité cytoplasmique. In A. Thomas. Exposés actuels de Biologie cellulaire, Mécanismes d'autoreproduction, 57-80.
- MAUPAS E., 1900. Modes et formes de reproduction des Nématodes. Archs Zool. exp. gén., 8, 463-624.
- MEYL A.H., 1953 a. Beiträge zur Kenntnis der Nematodenfauna vulkanisch erhitzter Biotope. I. Die Terrikolen Nematoden an Bereich von Fumarolen auf der Insel Ischia. Z. Morph. Ökol. Tiere, 42, 67-116.
- MEYL A.H., 1953 b. Beiträge zur Kenntnis der Nematodenfauna vulkanisch erhitzter Biotope. II. Die in Thermalgewässern der Insel Ischia vorkommenden Nematoden. Z. Morph. Ökol. Tiere, 42, 159-208.
- NIGON V., 1949. Les modalités de la reproduction et le déterminisme du sexe chez quelques Nématodes libres. Annls. Sci. nat. Zool., 11, 1-132.
- NIGON V., BRUN J., 1955. L'évolution des structures nucléaires dans l'ovogenèse de Caenorhabditis elegans Maupas 1900. Chromosoma, 7, 129-169.
- OSCHE G., 1962. Das Präadaptationsphänomen und seine Bedeutung für die Evolution. Zool. Anz., 162, 50-67.

- PESSON P., 1960. Quelques problèmes posés au biologiste par les Insectes résistants aux insecticides. Meded. LandbHoogesch. OpzoekStns Gent., 25, 993-1008.
- PICTET A., 1905. Influence de l'alimentation et de l'humidité sur la variation des papillons. Mem. Soc. Phys. Hist. nat. Genève, 35, 45-127.
- POLJANSKI J.I., 1957. Adaptation thermique chez les Ciliés. I, Dépendance de la résistance à la chaleur de Paramecium caudatum vis-à-vis des conditions ambiantes de température (en russe). Zool. Zh., 36, 1630-1646.
- PRECHT H., CHRISTOPHERSEN J., HENSEL N., 1955. Temperatur und Leben. Springer, Berlin, 1 vol., 514 p.
- PROSSER C.L., 1958. Physiological adaptation. Symp. Amer. Physiol. Soc. Wash., Baltimore Press, 1 vol., 185 p.
- SAMOKHVALOVA G.V., 1954. Production de modifications héréditaires dirigées chez les Aphides, par changement de plantes dont ils se nourrissent. (En russe). Zool. Zh., 33, 1032-1040.
- SANG J.H., BURNET B., 1963. The importance of agar. Drosoph. Inf. Serv., 38, 102.
- SCHNITZER R.J., GRUNBERG E., 1957. Drug resistance of microorganisms. Academic Press, N.Y., 1 vol., 395 p.
- SHAPOSHNIKOV G.K.H., 1961. Spécificité et genèse d'adaptation à de nouveaux hôtes chez les Pucerons (Homoptera, Aphididea) dans le processus de sélection naturelle (étude expérimentale). (en russe). Ent. obozr., 40, 739-762.
- SIMONOV N.S., 1952. Expérience d'adaptation du Bombyx du chêne A. pernyi (en russe). Dokl. vses. Akad. sel's-khoz. Nauk, 9, 33-39.
- SLADDEN D.E., HEWER H.R., 1938. Transference of induced food habit from parent to offspring. Proc. R. Soc. B, 126, 30-44.

- SMIRNOV J.S., 1957. L'hérédité des propriétés acquises au cours du processus d'adaptation (en russe). Zh. obshch. Biol., 18, 464-475.
- STERN V.M., 1962. Increased resistance to organophosphorous Insecticides in the parthenogenetic spotted alfalfa Aphid, Therioaphis maculata, in California. J. econ. Ent., 55, 900-904.
- TOWER W.L., 1906. An investigation of evolution in Chrysomelid beetles of the genus Leptinotarsa. Carneg. Inst. Public., n° 48, 320 p.
- UNTERSTENHOEFFER G., 1960. Etat actuel de la résistance aux insecticides et acaricides. Höfchenbr. Bayer PflSchutz-Nachr (édition française), 13, 141-150.
- WADDINGTON C.H., 1961. Genetic assimilation. Adv. Genet., 10, 257-293.
- WALTHER H., 1932. Der Melanismus der Schmetterlinge. Int. ent. Z., 25, 409-415.

L'ADAPTATION AUX TEMPERATURES ELEVEES CHEZ UN NEMATODE :

Caenorhabditis elegans MAUPAS 1900

DEUXIEME PARTIE - STABILITE ET PHYSIOLOGIE DE L'ADAPTATION

J. L. BRUN

Service de Biologie générale et appliquée
Faculté des Sciences de Lyon

S O M M A I R E

Lorsque C. elegans provient directement d'une souche maintenue depuis des années à 18°C, au laboratoire, il ne peut se reproduire indéfiniment aux températures supérieures à 22°. En augmentant progressivement et très lentement la température d'élevage, on peut cependant obtenir des lignées perpétuellement fécondes jusqu'à 24°5.

La stabilité des mécanismes adaptatifs ainsi instaurés croît avec la durée de culture à la température élevée. Finalement, par exemple, une lignée élevée pendant 453 générations à 23°5 conservera, malgré 180 générations de retour à la température initiale de 18°, une fécondité significativement différente de celle de la souche maintenue continuellement à cette température de base.

L'étude cytologique de la gamétogenèse révèle que la stérilité des animaux portés à une température trop élevée résulte d'un dérèglement anormal de l'ovogenèse analogue à celui que produisent des chocs thermiques. Il en résulte que les animaux acclimatés ont vu se produire une modification de leur physiologie ovarienne qui permet à la gamétogenèse de se dérouler normalement.

INTRODUCTION

Dans la première partie de l'exposé de ce travail (BRUN 1966 b), j'ai montré qu'à partir d'une souche Bergerac "psychrophile" de C. elegans, il était expérimentalement possible d'obtenir des lignées génétiquement adaptées à des températures élevées comprises entre 22 et 24°5 C. Cette accoutumance se manifeste, en particulier, par une fécondité plus forte. Elle se présente comme la résultante d'un effet cumulatif dans l'action du facteur température.

Dans cette deuxième partie, je définirai de façon plus précise la nature de cette adaptation :

- a) Tout d'abord en considérant la stabilité de l'accoutumance obtenue. Pour ce faire j'ai ramené à leurs conditions initiales d'élevage les organismes adaptés et j'ai examiné jusqu'à quel point le niveau d'adaptation atteint - et défini par la fécondité des Nématodes - persiste au cours des générations successives. Ces observations sont complétées par celles fournies lorsque les animaux, après avoir été maintenus pendant un temps plus ou moins long à basse température, retrouvent leur température élevée d'adaptation.
- b) Ensuite en examinant le rôle attribuable aux divers mécanismes physiologiques susceptibles de présider à la naissance et au développement des formes adaptées. A ce propos, je me suis tout particulièrement attaché à analyser les rapports entre les modifications cytologiques de la gamétogenèse et l'accoutumance des Nématodes aux températures élevées.

Les informations ainsi recueillies viendront s'ajouter à celles dont il sera fait état dans la 3ème partie de l'exposé de ce travail (Rôle du milieu nutritif et de la sélection), lorsque le moment sera venu de conclure sur le déterminisme de l'adaptation thermique de C. elegans.

R E S U L T A T S

CHAPITRE I - LA STABILITE DE L'ADAPTATION

L'adaptation des Nématodes à une température élevée apparaît comme une propriété dont l'acquisition est liée précisément à l'action exercée par la température elle-même. A partir de là, il devenait nécessaire d'estimer le degré de stabilité des adaptations obtenues, une fois que le facteur inducteur a disparu.

L'exploration de ce problème s'effectue tout naturellement en ramenant d'abord à une température relativement basse des individus adaptés à température élevée (il s'agit alors de ce que j'appellerai, pour simplifier l'expression, les "expériences de descente"). Ensuite, après un nombre de générations plus ou moins important, les animaux sont reportés à température élevée ("expériences de retour") et leurs propriétés sont comparées à celles de la souche qui a été maintenue à cette température. Les résultats de cette comparaison fournissent directement les éléments qui permettent de juger le degré de stabilité de l'adaptation.

L'inconvénient de cette méthode est, encore une fois, d'exiger la considération d'un nombre important de générations : des perturbations provenant soit d'un changement génétique brutal, soit d'une transformation du milieu, peuvent en effet se produire dans l'intervalle. Ce qui oblige à entretenir des lignées de contrôle :

- a) lignées de contrôle génétique : aux températures de prélèvement, des lignées soeurs sont maintenues pendant toute la durée de l'expérience.
- b) lignées de contrôle du milieu : à chaque température d'expérience, la fécondité des générations successives "descendues" ou "retournées" est comparée à celle de la souche demeurée constamment à cette température. Les conditions de culture de cette souche doivent être les plus proches possible de celles des lignées en expérience (1).

(1) Les techniques de culture sont celles décrites dans la première partie de l'exposé de ce travail (BRUN 1966 b)

A - EFFETS D'UNE DIMINUTION DE TEMPERATURE SUR LA FECONDITE DES LIGNEES ADAPTEES

Les graphiques de la figure II - 1 résument les résultats obtenus dans l'ensemble des expériences effectuées. Le graphique I relate les descentes à 18°, à partir soit de 23°5 (moyennes de 7 expériences), soit de 23° (moyennes de 3 expériences). Le graphique II correspond à une expérience de descente de 23°5 à 22°, le graphique III à une descente de 23°5 à 23°.

On peut en tirer les conclusions suivantes :

- a) la fécondité des Nématodes descendus reste toujours significativement plus forte qu'aux températures de prélèvement, c'est-à-dire aux températures d'adaptation - et ceci dès la première génération.
- b) avec le temps, la fécondité des Nématodes tend vers celle qui caractérise les animaux maintenus constamment à la température à laquelle la descente a été effectuée.

Dans cette évolution, il est certain que la température de descente joue un rôle important. Cependant l'influence la plus intéressante à considérer correspond à celle exercée par le degré d'adaptation aux températures élevées des Nématodes.

Comme nous l'avons vu dans la première partie, ce degré d'adaptation se définit de deux façons :

- par la fécondité des Nématodes à une température élevée ;
- par la température la plus élevée à laquelle ils sont susceptibles de se reproduire.

Il est intéressant de constater que les variations de ces deux caractéristiques se répercutent de la même façon dans le comportement des animaux descendus à une température inférieure.

1) INFLUENCE DE LA FECONDITE A TEMPERATURE ELEVÉE

La comparaison portera entre la première et la dernière expérience de descente à 18° effectuées à partir de 23°5. Lors de la première expérience (lignée 277), les Nématodes, prélevés au niveau de la 277ème génération à 23°5, se trouvaient en fin de phase II d'adaptation (BRUN 1966 b, fig. I - 5) ; leur fécondité

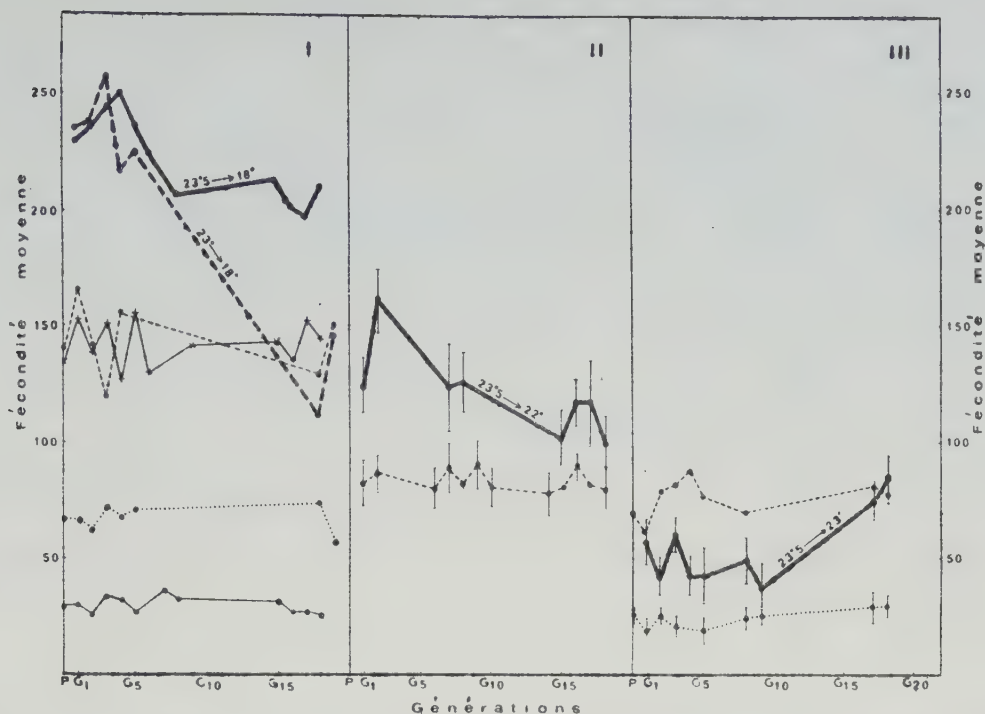


FIGURE II - 1 - Effets d'une diminution de température sur la fécondité des Nématodes adaptés (milieu nutritif 2,3 S)

GRAPHIQUE I : DESCENTES A 18° (Modalité expérimentale I)

- a) expériences 23°5 → 18°
- 23°5 → 18° (moyennes de 7 expériences : de la 112ème à la 453ème génération à 23°5. 1448 géniteurs au total)
 - × 18° (contrôle du milieu)
 - 23°5 (contrôle génétique)
- b) Expériences 23° → 18°
- - - - 23° → 18° (moyennes de 3 expériences ; de la 298ème à la 549ème génération à 23°. 468 géniteurs au total)
 - 18° (contrôle du milieu)
 - 23° (contrôle génétique)

GRAPHIQUE II : DESCENTE A 22° (Modalité expérimentale I)

- 23°5 → 22° (96ème génération à 23°5. 141 géniteurs au total)
- 22° (contrôle du milieu)

GRAPHIQUE III : DESCENTE A 23° (Modalité expérimentale I)

- 23°5 → 23° (211ème génération à 23°5. 221 géniteurs au total)
- 23° (contrôle du milieu)
- 23°5 (contrôle génétique)

(●) Intervalle de confiance pour un risque de 5%

Fécondité moyenne des générations
issues du transfert 23°5 → 18° et
maintenues à 18°

Fécondité moyenne de la
souche de contrôle élevée
continuellement à 18°

1 ^e	GENERATION :	233,5 ± 16,8	130,4 ± 20,6
2 ^e	GENERATION :	237,7 ± 20,1	124,2 ± 16,7
17 ^e	GENERATION :	239,2 ± 29,2	135,2 ± 23,2
18 ^e	GENERATION :	234,4 ± 22,8	152,9 ± 24,5
183 ^e	GENERATION :	187,2 ± 18,7	138,2 ± 19,0
184 ^e	GENERATION :	179,6 ± 17,9	140,1 ± 12,2

TABLEAU II - 1 - EFFET D'UN MAINTIEN PROLONGE A 18° SUR LA FECONDITE DES
NEMATODES DE LA 453^e GENERATION A 23°5
DESCENDUE A 18°

(Milieu 2,3 S - Modalité expérimentale I)

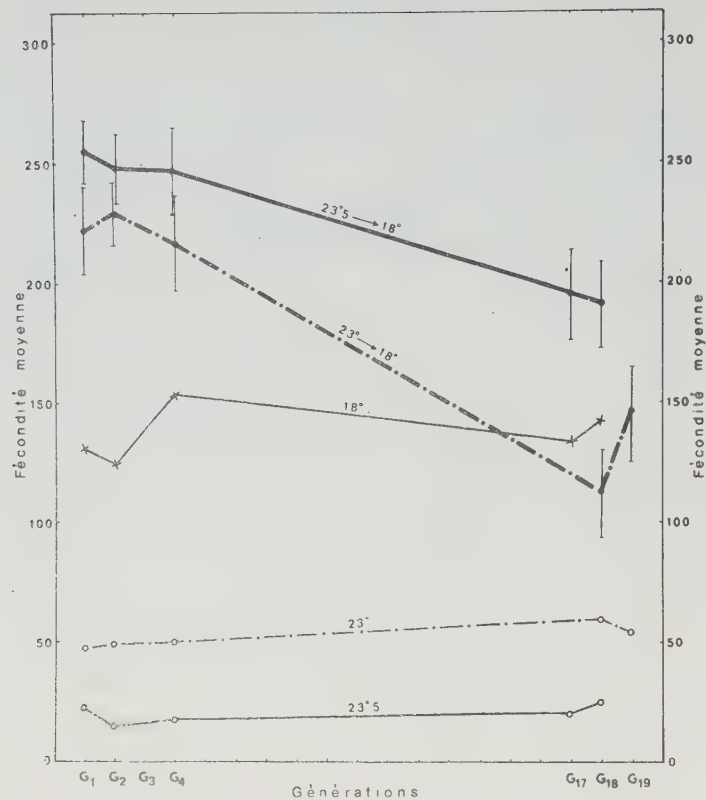


FIGURE II - 3 - Comparaison des fécondités moyennes des générations successives lors de deux expériences de descente à 18°, l'une à partir de 23°5, l'autre à partir de 23° (Modalité expérimentale I. Milieu nutritif 2,3 s)

———— Descente 23°5 → 18°
 ○——○ Lignée de contrôle maintenue à 23°5
 (Fécondité des générations correspondantes)
 x——x Souche de contrôle élevée continuellement à 18°

LIGNEE 277 à 23°

- - - - - Descente 23° → 18°
 - . - . - Lignée de contrôle maintenue à 23°
 (Fécondité des générations correspondantes)

LIGNEE 298 à 23°

(● — | Intervalle de confiance pour un risque de 5%)

moyenne était voisine de 20. Lors de la dernière expérience (453ème génération à 23°5), les vers étaient en pleine phase III : leur fécondité moyenne était de l'ordre de 45.

Le comportement de ces deux lignées est représenté figure II - 2.

Il ressort qu'après une période initiale assez uniforme qui s'étend jusqu'à la 9ème génération de descente, la fécondité des deux lignées évolue différemment. La lignée 277 voit nettement décroître sa fécondité. Celle-ci, sans égaler encore, après 18 générations, celle de la souche maintenue constamment à 18°, s'en rapproche fortement : à ce moment, les Nématodes adaptés sont significativement moins féconds qu'au début de leur séjour à 18°. Ceci ne se produit pas dans la lignée 453. Bien plus, en poursuivant le maintien de cette lignée à 18° bien au-delà du cadre mentionné dans la fig. II - 2, on constate qu'après plus de 180 générations de descente, sa fécondité est encore significativement différente de celle de la souche élevée continuellement à 18° (tableau II - 1). Toutefois, à ce niveau, cette fécondité est aussi significativement différente de celle des premières générations de descente.

En définitive, la fécondité de la lignée 277 - la moins bien adaptée à la température élevée - diminue assez rapidement. Celle de la lignée 453 - la mieux adaptée à 23°5 - s'avère beaucoup plus stable.

2) INFLUENCE DE LA TEMPERATURE DE PRELEVEMENT

On peut, pour cela, comparer, toujours à 18°, le comportement d'animaux adaptés prélevés au niveau d'une même phase d'adaptation mais à deux températures élevées différentes. En l'occurrence, les deux expériences les plus complètes correspondent à l'utilisation d'animaux en fin de phase II : 277ème génération à 23°5 ; 298ème génération à 23° (la lignée 298 à 23° a été soumise à l'influence de la chaleur, au total, seulement pendant 393 générations alors que la lignée 277 à 23°5 la supporte depuis 624 générations ; cf. BRUN 1966 b - fig. I - 4).

Les résultats se traduisent graphiquement fig. II - 3.

On constate que le comportement des deux lignées étudiées devient de plus en plus différent à mesure que se prolonge le séjour à 18°. La lignée 23 → 18° subit en effet une diminution de fécondité telle qu'au niveau des 18 - 19ème générations de descente, les animaux retrouvent une fertilité comparable à celle de la souche maintenue continuellement à 18°.

Descendus à des températures inférieures à celles auxquelles ils se sont adaptés depuis un grand nombre de générations, les Nématodes voient donc leur fécondité tendre vers des caractéristiques propres aux températures de descente utilisées. Cependant la vitesse à laquelle s'effectue cette évolution dépend de la température de descente et du degré d'adaptation atteint par les animaux. Plus ceux-ci sont accoutumés à la chaleur, plus l'évolution est lente.

B - LA FECONDITE APRES RETOUR AUX TEMPERATURES ELEVEES

Pour caractériser au mieux l'évolution de la fécondité moyenne lors des expériences de retour, une double comparaison est nécessaire. D'une part, avec les animaux de la même souche adaptée mais demeurée continuellement à la température élevée. D'autre part, avec les Nématodes non acclimatés et transférés directement à cette même température élevée.

Les figures II - 4 a, b et c rapportent les résultats relatifs à la première modalité, définie ci-dessus, pour l'ensemble des expériences de retour à 23°5.

En ce qui concerne le deuxième type de comparaison, un exemple en est fourni par le tableau II - 2. On y compare, par le test de t, la fécondité moyenne des générations correspondantes 18 → 23°5 d'une part, 23°5 → 18 → 23°5 d'autre part (celles-ci appartenant à la lignée la plus faiblement adaptée à 23°5 avec laquelle on ait expérimenté dans ces conditions : 218ème génération de culture à cette température).

De l'ensemble des données, deux constatations s'imposent :

- a) Une descente prolongée à basse température suivie de retour à la température élevée d'adaptation conduit toujours à une diminution de fécondité par rapport aux animaux maintenus continuellement à cette température élevée.

Nous avons vu, dans la première partie de ce travail, que le niveau d'accoutumance aux températures élevées se définit au mieux par l'importance de la fécondité. La baisse de fécondité définie ci-dessus correspond donc à une diminution du degré d'adaptation des Nématodes. Il en découle que la baisse progressive de fécondité observée également, et le plus souvent lors des descentes prolongées à la température habituelle d'élevage, révèle déjà

	I	A	COMPARAISON I et A par le test de t	III	B	COMPARAISON III et B par le test de t
	Récondité moyenne à 23°5 des Nématodes 23°5 + 18° + 23°5 ayant séjourné 7 à 9 générations à 18°	Récondité moyenne des générations correspondantes 18° + 23°5	Probabilité	Récondité moyenne à 23°5 des Nématodes 23°5 + 18° + 23°5 ayant séjourné 13 à 15 générations à 18°	Récondité moyenne des générations correspondantes 18° + 23°5	Probabilité
1ère génération à 23°5	22,0 °	7,9	P $\neq$ 0,01	17,9	7,9	P $\neq$ 0,02
2ème génération à 23°5	22,8	7,7	P $\neq$ 0,01	18,2	7,1	P $\neq$ 0,004
3ème génération à 23°5	20,8	5,4	P < 0,01	17,1	6,9	P = 0,03
4ème génération à 23°5	22,7	4,2	P $\neq$ 0,01	17,0	4,4	P $\neq$ 0,01
5ème génération à 23°5	23,6	0,9	P $\neq$ 0,01	12,9	4,1	P $\neq$ 0,02
6ème génération à 23°5	25,2	0		non calculée mais fécondée	0	

TABIEAU II - 2 - COMPARAISON DES RÉCONDITES MOYENNES A 23°5 DE NEMATODES ISSUS :

- d'une part des transferts 23°5 + 18° + 23°5 de la 218e génération adaptée à 23°5 (le séjour des animaux à 18° a duré soit 7 à 9 générations, soit 13 à 15 générations)
 - d'autre part, des transferts directs 18° + 23°5
- (les différences significatives correspondent à des probabilités $\leq$ 0,05)

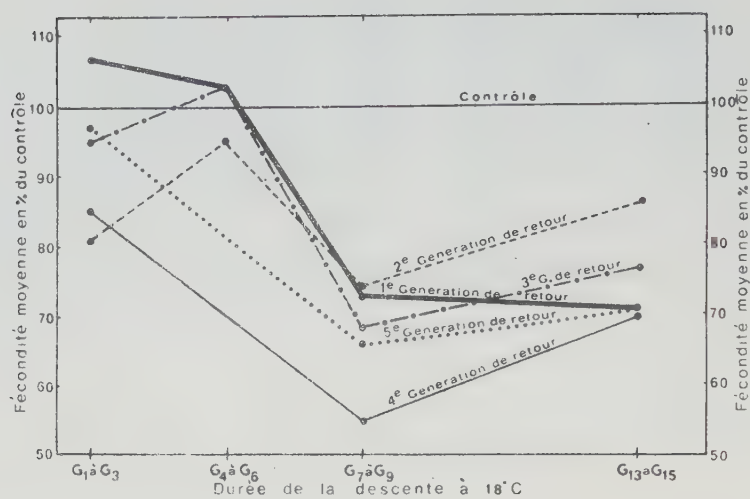


Figure II - 4 a

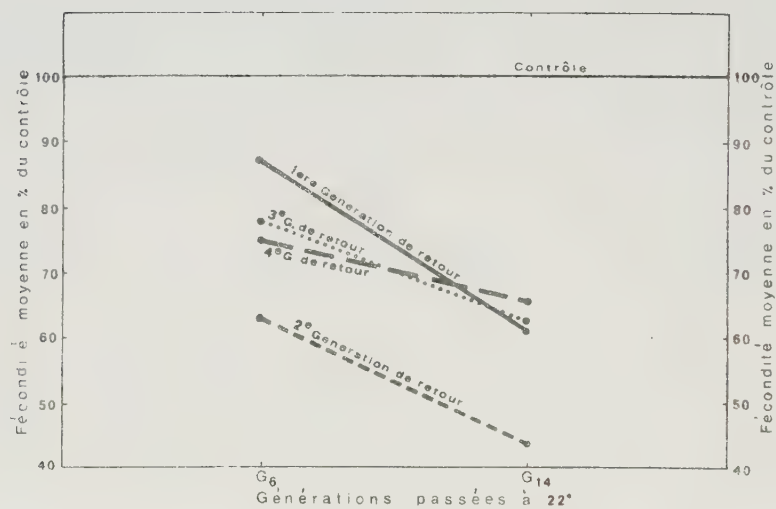


Figure II - 4 b

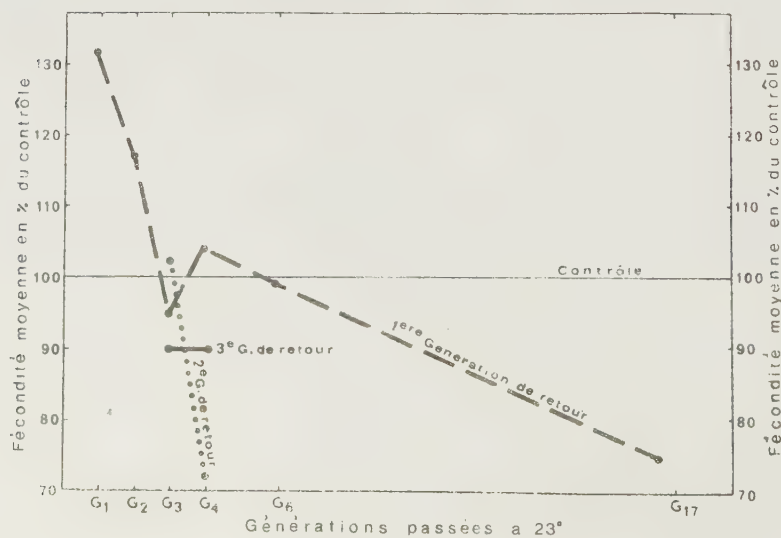


Figure II - 4 c

FIGURES II - 4 a, b et c - Evolution de la fécondité moyenne des 3 à 5 premières générations suivant le retour des Nématodes à 23°5 en fonction de la durée du séjour à la température de descente

(La fécondité est exprimée en pourcentage de celle des lignées de contrôle maintenues continuellement à 23°5 -
Modalité expérimentale I - Milieu nutritif 2,3 S)

Figure II - 4 a : 23°5 → 18° → 23°5 - Les nombres de générations de séjour à 18° ont été groupés en classes de trois générations successives. Chaque point correspond à la moyenne des résultats de 5 expériences effectuées à partir de Nématodes prélevés entre la 278ème et la 453ème génération à 23°5 (nombre total de géniteurs : 3937)

Figure II - 4 b : 23°5 → 22° → 23°5 - Une expérience effectuée à partir de la 96ème génération à 23°5 ; 141 géniteurs au total

Figure II - 4 c : 23°5 → 23° → 23°5 - Une expérience réalisée à partir de la 211ème génération à 23°5 ; 348 géniteurs au total

Nombre de générations de séjour à la température inférieure	Différence de fécondité entre souche 23°5 et lignée 23°5 + 18° + 23°5	Probabilité (par application du test de t)	Différence de fécondité entre souche 23°5 et lignée 23°5 + 23° + 23°5	Probabilité (par application du test de t)
1 ^e génération	+ 0,7	P # 0,86	+ 10,4	P # 0,08
2 ^e génération	+ 1,6	P # 0,73	+ 5,8	P # 0,43
3 ^e génération	- 3,3	P # 0,87	- 0,7	P # 0,87
4 ^e génération	+ 5,8	P # 0,12	+ 0,8	P # 0,88
8 ^e génération	- 5,2	P # 0,07	- 0,3	P # 0,96
17 ^e génération	- 18,3	P # 0,01		
18 ^e génération			- 7,7	P # 0,21

TABLEAU II - 3 - DIFFERENCES DE FECONDITE A 23°5 ENTRE LA SOUCHE MAINTENUE CONTINUELLEMENT A CETTE TEMPERATURE ET DES LIGNEES DESCENDUES A 18° ET 23° ET RAMENEES ENSUITE A 23°5

- La fécondité de la souche maintenue à 23°5 est la fécondité de référence
- La lignée 23°5 + 18° + 23°5 provient de la 27^e génération à 23°5
- La lignée 23°5 + 23° + 23°5 provient de la 21^e génération à 23°5

- Modalité expérimentale I - Milieu nutritif 2,3 S -

Les comparaisons portent chaque fois sur 30 à 60 mesures de fécondité
(Les différences significatives correspondent à des probabilités $\leq 0,05$)

cette perte d'accoutumance. Les retours la définissent sans ambiguïté.

- b) La diminution de fécondité ainsi signalée n'a cependant jamais abouti - du moins pour les conditions expérimentales employées - au rétablissement de la stérilité qui marque toujours les transferts directs aux températures élevées, des Nématodes non adaptés (tableau II- 2). Dans toutes mes expériences, les animaux ont donc réussi à conserver une partie au moins de leur accoutumance thermique. Ce maintien des mécanismes adaptatifs dépend d'un certain nombre de facteurs :

1) INFLUENCE DE LA TEMPERATURE DE DESCENTE

Le tableau II - 3 révèle comment diffère la fécondité moyenne de la première génération de retour à 23°5, selon que les animaux proviennent d'un séjour de même durée à 18 ou à 23° (pour que les résultats puissent être comparés, les transferts 23°5 → 18° → 23°5 et 23°5 → 23° → 23°5 ont été effectués avec des Nématodes prélevés au même niveau d'adaptation à 23°5 : phase II d'adaptation).

On constate ainsi qu'après une descente de 17 générations à 18°, la diminution de fécondité par rapport à la souche maintenue continuellement à 23°5, est nettement significative alors qu'elle est loin de l'être encore au bout de 18 générations de descente à 23°.

Ainsi la descente des Nématodes à une température proche de celle à laquelle ils se sont accoutumés, les désadapte moins - en tous les cas moins rapidement - qu'une descente à la température habituelle d'élevage : 18°.

2) INFLUENCE DU NIVEAU D'ACCOUTUMANCE THERMIQUE DES NEMATODES

Au chapitre précédent, j'ai montré, à propos de la descente à 18°, que la diminution de fécondité est d'autant plus importante que les animaux sont moins adaptés à 23°5, c'est-à-dire sont maintenus depuis moins longtemps à cette température. Pour ce faire, j'avais comparé le comportement à 18° des générations successives issues de la 277ème génération à 23°5 d'une part, de la 453ème génération à 23°5 d'autre part. La lignée obtenue dans ce dernier cas se caractérisait par une forte stabilité, même après 18 générations de descente. Qu'advient-il lors du retour de ces deux lignées à la température d'adaptation

de 23°5 ? Comme l'indique le graphique de la fig. II - 5 :

- a) Leur comportement est nettement différent. Les courbes correspondantes sont en effet nettement distinctes, quelle que soit la modalité d'analyse, à l'exception toutefois des points fournis après les deux premières générations de descente à 18° : à ce niveau l'expression de la fécondité de la lignée 453 en pourcentage de celle de la souche de contrôle maintenue à 23°5 est affectée par une augmentation anormale et fugace de la fécondité de cette dernière. Si on en fait abstraction et que l'on compare, par le test de t, la fécondité moyenne des générations correspondantes de retour à 23°5 des lignées 277 et 453 (tableau II- 4), dans tous les cas, la différence de fécondité est significative.
- b) En fonction du temps de séjour à 18°, la fécondité de la lignée 277 diminue beaucoup plus vite que celle de la lignée 453, la mieux adaptée initialement à la température de 23°5. En effet, alors que cette diminution de fécondité est sensible dès la 2ème génération de séjour à 18° dans le cas de la souche 277 et qu'elle ne fait que s'accroître avec le temps, cette diminution n'est bien évidente qu'à partir de la 8ème génération pour la lignée 453.

En définitive, nous en arrivons à une conclusion identique à celle exprimée au chapitre précédent, à savoir que la lignée 453 est plus stable que la lignée 277. Il est en outre très intéressant de remarquer que les lignées moins adaptées que la lignée 453 mais plus adaptées que la lignée 277 semblent montrer une stabilité intermédiaire.

3) INFLUENCE DE LA DUREE DU RETOUR

On arrive à la même conclusion que précédemment - à savoir que la lignée 453 est plus stable que la lignée 277 - si l'on considère le nombre de générations de retour à 23°5 nécessaires pour que les Nématodes retrouvent la fécondité des témoins.

On constate, tout d'abord, que, si la durée du séjour à température inférieure est faible, la récupération exige un nombre de générations de retour moins important lorsque l'adaptation thermique initiale est plus importante.

En outre, comme le montre le graphique de la figure II - 6, cette restauration s'exerce encore après seulement cinq générations de retour à 23°5 à la sui-

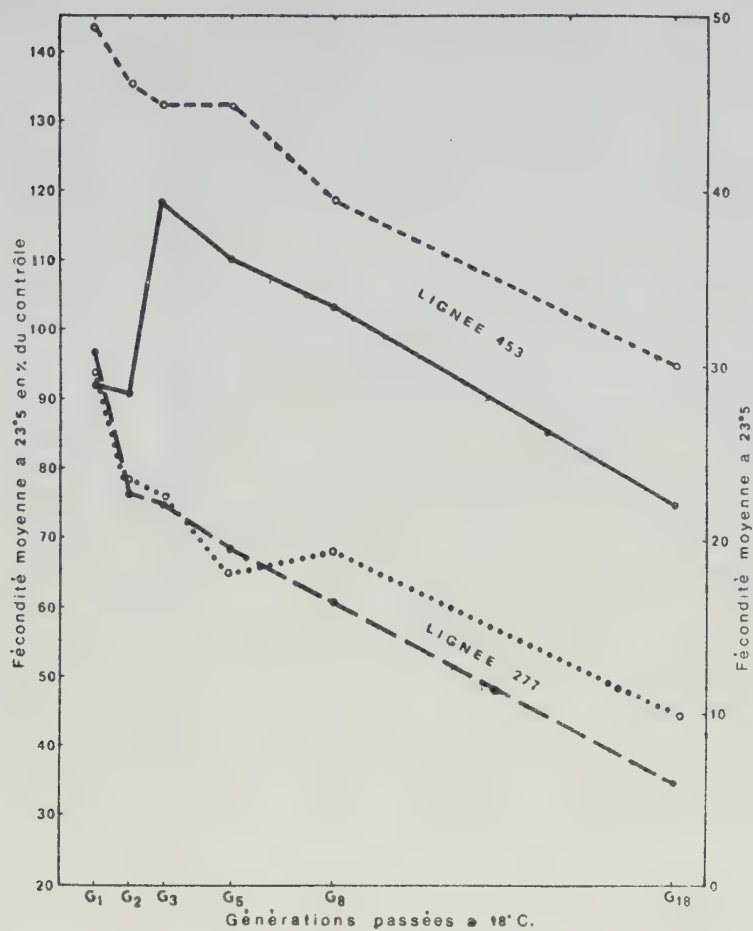
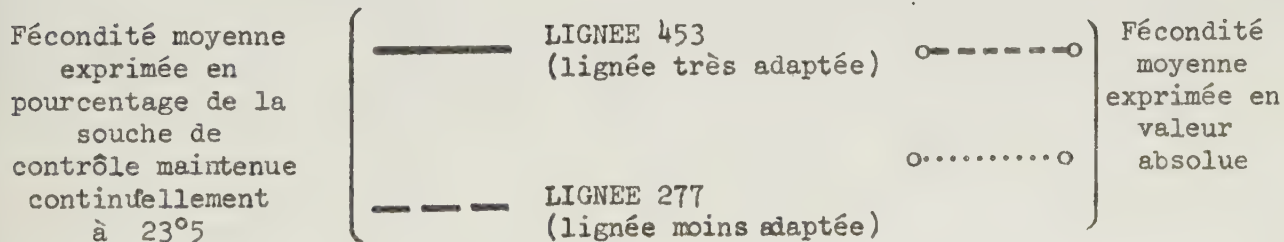


FIGURE II - 5 - Evolution de la fécondité moyenne de l'ensemble des trois premières générations de retour à 23°5 en fonction de la durée du séjour des Nématodes à la température de descente : 18°



(Modalité expérimentale I - milieu nutritif 2,3 S)

GENERATIONS PASSES A 18°

	1	2	3	5	8	18
LIGNEE 277 (Fécondité moyenne)	30,7	23,2	22,0	18,0	19,5	10,0
LIGNEE 453 (Fécondité moyenne)	49,6	46,1	45,0	45,0	39,5	30,1
PROBABILITE	$P < 0,01$	$P \neq 0,01$	$P < 0,01$	$P < 0,01$	$P < 0,01$	$P < 0,01$

TABEAU II - 4 - COMPARAISON, PAR LE TEST DE T, DE LA FECONDITE MOYENNE DE L'ENSEMBLE DES TROIS PREMIERES GENERATIONS DE RETOUR A 23°5 DES LIGNEES 277 ET 453 EN FONCTION DE LA DUREE DE LEUR SEJOUR A 18°

(Les différences significatives correspondent à des probabilités $\leq 0,05$)

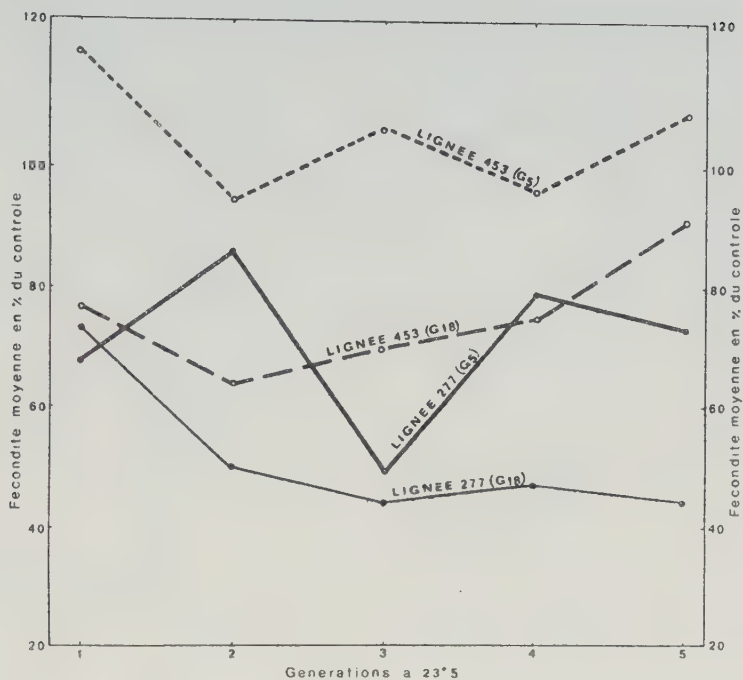


FIGURE II - 6 - Variations de la fécondité moyenne au cours des générations successives suivant le retour à 23°5 des lignées 277 et 453
(La fécondité est exprimée en pourcentage de celle de la souche maintenue continuellement à 23°5)

LIGNEE 277 (la moins adaptée)	{	————— Retour à 23°5 après 5 générations à 18° ————— Retour à 23°5 après 18 générations à 18°
LIGNEE 453 (la mieux adaptée)	{	○- - - - - Retour à 23°5 après 5 générations à 18° ○- - - - - Retour à 23°5 après 18 générations à 18°

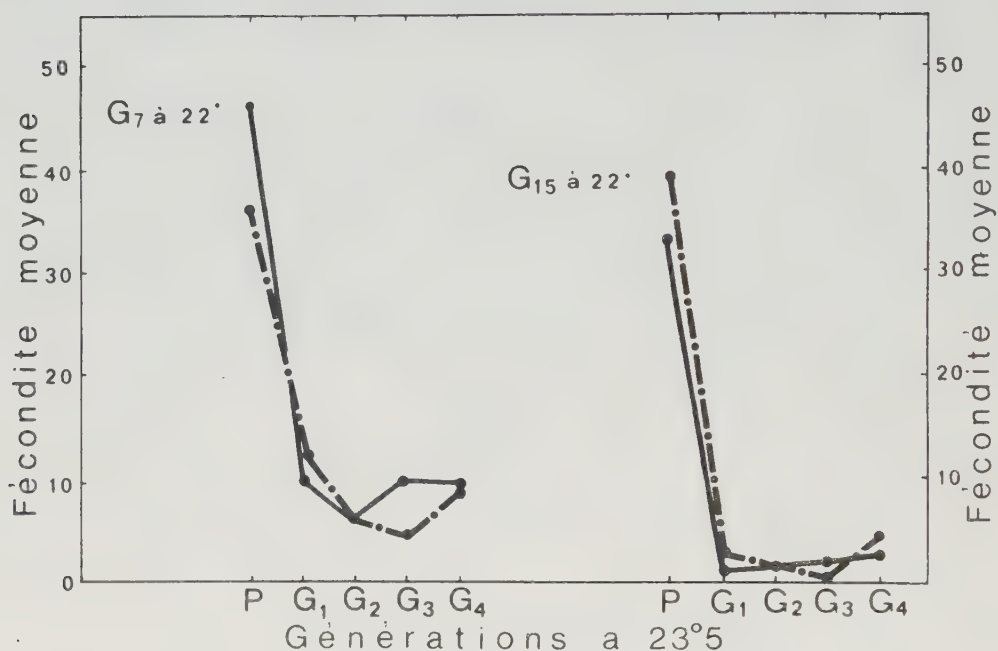


FIGURE II - 7 - Variations de la fécondité moyenne des générations successives des deux lignées parallèles Y et A' ramenées à 23°5 après des séjours de 7 et 15 générations à 22°

— LIGNEE A' }
 - - - LIGNEE Y }

(cf BRUN 1966 a - arbre généalogique fig. I-13)

- Milieu 2,3 S - Modalité expérimentale II

- Nombre moyen de géniteurs, à chaque génération, pour chaque lignée = 12,3

FECONDITE MOYENNE

Générations de retour à 23°5	Après 1 à 3 générations de séjour à 18°	Après 13 à 15 générations de séjour à 18°	Probabilité
1e génération	40,5	28,1	P = 0,03
2e génération	46,9	29,2	P < 0,02
3e génération	37,9	26,3	P = 0,04

TABLEAU II - 5 - COMPARAISON, PAR LE TEST DE T, DE LA FECONDITE
MOYENNE LORS DES RETOURS A 23°5, DES NEMATODES DE LA LIGNEE 453
AYANT SEJOURNE PLUS OU MOINS LONGTEMPS A 18°

(Les différences significatives correspondent à des probabilités $\leq 0,05$)

d'un stage de 18 générations à 18°, dans le cas de la lignée 453, tandis qu'un retour de plus longue durée s'avère nécessaire dans le cas de la lignée 277.

C - CONCLUSIONS

Entre les conclusions fournies par les expériences de retour et celles résultant des expériences de descente, il n'existe aucun désaccord. Cette constatation se trouve renforcée par le fait que, dans l'une et l'autre des modalités, on observe une bonne reproductibilité des expériences. Ainsi, par exemple, les deux lignées A' et Y descendues de 23°5 à 22° (BRUN 1966 b - fig. I-13 et I-17) ont été ramenées à 23°5 après avoir séjourné à 22°, d'une part pendant 7 générations, d'autre part pendant 15 générations. Comme l'indique la figure II - 7, les courbes traduisant l'évolution de leur fécondité moyenne pendant les 5 premières générations de retour se montrent, dans chaque cas, très voisines : ici encore le comportement des deux lignées est similaire.

On remarquera toutefois que les résultats de retours sont plus révélateurs de l'état des Nématodes que le simple examen de leur comportement lors du transfert à basse température. Ainsi, tandis qu'une descente à 18° des Nématodes les plus adaptés à la température élevée de 23°5 (lignée 453), bien que poursuivie pendant 18 générations, est impuissante à entraîner des modifications de fécondité, celles-ci se révèlent incontestablement lorsque de tels animaux sont ramenés à 23°5. Le tableau II - 5 montre en effet que la différence de fécondité moyenne observée lors du retour à 23°5 entre, d'une part, la classe des trois premières générations de descente à 18° et, d'autre part, la classe des 13 à 15ème générations de descente à cette température, est toujours significative. Le retour à 23°5 rend donc évidente une transformation qui, à 18°, restait encore latente, exigeant, à cette température, une durée de descente plus longue pour s'exprimer.

Compte tenu de cette remarque, les conclusions suivantes s'imposent :

1) Les mécanismes adaptatifs mis en place par un long séjour à la chaleur et l'élévation progressive de la température d'élevage l'ont prouvé d'une certaine stabilité.

2) Cette stabilité se manifeste :

a) par l'impossibilité - pour une lignée suffisamment adaptée à la chaleur - de retrouver lors de sa descente à une température inférieure prolongée pendant 18 générations, la fécondité caractéristique de la souche maintenue à cette température.

b) par l'impossibilité, toujours pour une lignée suffisamment adaptée à la chaleur, de revenir, lors des retours à la température d'adaptation, aux conditions des transferts directs à cette température.

c) par une rapide "récupération" lors du retour des animaux à la température d'adaptation.

3) Cette stabilité est fonction :

a) de l'ampleur des modifications apportées aux conditions d'adaptation (température de descente, durée de séjour à cette température de descente).

b) du degré d'adaptation des Nématodes aux températures élevées. Elle dépend, en effet, d'une part de la température élevée supportée, d'autre part de la durée du maintien des animaux à la température d'adaptation.

De toutes ces caractéristiques, la plus remarquable correspond sans doute à la liaison existant entre la stabilité des mécanismes adaptatifs et le degré d'adaptation des Nématodes. C'est qu'une telle relation n'a jamais été relevée, dans le cadre de la thermo-adaptation génétique même à propos des Microorganismes. Si JOLLOS (1921) distingue, en ce qui concerne Paramecium caudatum, trois types d'adaptation d'après leur persistance lors du retour aux conditions initiales : modifications, modifications durables, mutations, il les conçoit comme des modalités d'adaptation différentes et ne les relie pas directement au niveau thermique supporté par les Paramécies. Notons cependant que la liaison ainsi constatée entre stabilité et degré d'adaptation se trouve assez fréquemment décrite, chez les Pluricellulaires, sous l'influence de facteurs chimiques (BOCHNING 1957 ; BOETTGER 1956 ; COLE et al. 1956 ; DAVID 1962 ; DERBENEVA-UKHOVA 1962 ; EDDY et al. 1955 ; EMERSON et CUSHING 1946 ; GASSER 1959 ; LUCHNIKOVA 1964 ; PIMENTEL et al. 1953 ; SMIRNOV 1962).

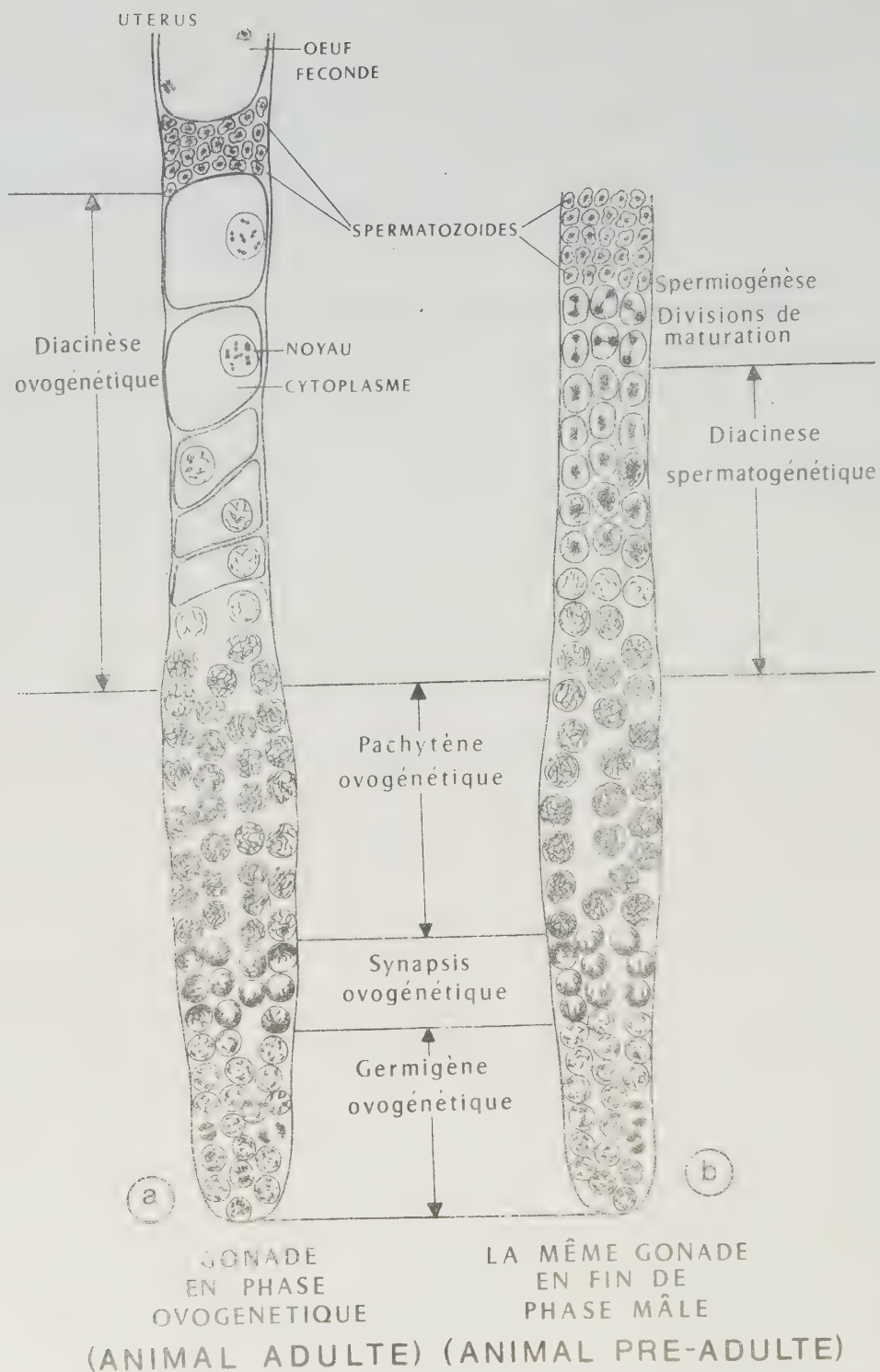


FIGURE II - 8 - Représentation schématique de la gaméto-genèse normale dans un ovotestis de *C. elegans* à deux stades différents de son développement

(Chaque fois, une moitié seulement de la gonade a été représentée.

x 300)

CHAPITRE II - PHYSIOLOGIE DE L'ADAPTATION :

MODIFICATIONS DE LA GAMETOGENESE ET ACCOUTUMANCE AUX TEMPERATURES ELEVEES

A - DONNEES PRELIMINAIRES

Avant d'entreprendre l'analyse des modifications de la gamétogenèse sous l'influence de températures élevées, je rappellerai brièvement certains points examinés de façon détaillée dans des publications antérieures.

1) TECHNIQUES CYTOLOGIQUES

Les techniques cytologiques employées sont celles décrites par NIGON (1949), NIGON et BRUN (1955). La gonade, étalée en frottis, est colorée au Feulgen-vert lumière ; dans ces conditions, les observations se bornent aux chromosomes et aux limites nucléaires et cellulaires.

2) LA GAMETOGENESE NORMALE

Chez cet hermaphrodite autogame, la gonade est formée de deux tubes identiques se rejoignant à leur extrémité distale. Dans chaque tube (fig. II - 8), les premiers gamètes formés évoluent en spermatozoïdes. Ceux-ci s'accumulent à la fin du tube où ils féconderont les ovocytes qui apparaissent ensuite, l'ovogenèse remplaçant de façon définitive la spermatogenèse initiale.

L'OVOGENESE (fig. II - 8 a) - Dès que le Nématode a atteint la maturité sexuelle, on voit se succéder régulièrement, du cul de sac terminal à l'utérus où s'accumulent les oeufs avant d'être pondus : germigène, synapsis, pachytène et diacinèse. Au début de la diacinèse s'effectuent conjointement l'accroissement cytoplasmique et l'individualisation cellulaire. En fin de diacinèse, la fécondation déclenche les divisions de maturation d'où résulte l'oeuf typique.

LA SPERMATOGENESE - Ses premiers stades se réalisent chez l'animal jeune ce qui en rend l'étude délicate. Cependant, chez des Nématodes proches de l'état adulte, on peut encore observer (fig. II - 8 b) la diacinèse et les divisions de maturation, ainsi que la spermiogénèse.

3) LES PRINCIPAUX TYPES DE MODIFICATIONS DES STRUCTURES GAMETOGENETIQUES (fig. II - 9)

D'une façon générale, les altérations de la gamétogénèse, constatées chez les Nématodes portés à températures élevées, ressemblent à celles qui résultent des chocs thermiques (BRUN 1955). On peut les résumer ainsi :

a) Modifications nucléaires (fig. II - 9 a à II - 9 f)

Outre la pycnose (fig. II 9 h) et la dispersion des éléments chromatiniens due à une désagrégation du noyau, on peut rencontrer les anomalies suivantes :

- DECONJUGAISON ou DESYNAPSIS - Peut-être parce que la chaleur rompt les chiasmes (HENDERSON 1963), dès le pachytène, les chromosomes homologues normalement étroitement appariés peuvent se séparer. A la diacinèse, du fait de la condensation des chromosomes, on peut facilement observer tous les intermédiaires entre les 6 bivalents habituels (fig. II - 9 a) et 12 univalents (fig. II - 9 c).

- POLYPLOIDIE (fig. II - 9 d) - En fait, la polysomie (fig. II - 9 e) semble plus fréquente que la polyploidie. On peut, en effet, compter au niveau germigène jusqu'à 29 chromosomes ; au niveau de la diacinèse jusqu'à 73.

- NOYAUX GEANTS (fig. II - 9 f) - Ils sont caractérisés à la fois par des dimensions considérables (jusqu'à 10 fois le diamètre d'un noyau normal) et par une structure dense et complexe qui interdit toute analyse précise de leur constitution.

b) Modifications de la structure cellulaire (fig. II - 9 g et h)

Dans l'examen d'une gonade normale (fig. II - 8) on est frappé, dès l'abord, par la distribution sensiblement régulière des noyaux à l'intérieur d'un

même zone. Au contraire, dans certaines conditions d'élevage, on aperçoit, de suite, des groupements irréguliers de noyaux, resserrés entre eux et séparés des autres. Ainsi, l'ensemble des noyaux germigènes peut se grouper, d'une façon plus ou moins dense, dans l'axe de cette zone. Le plus souvent, l'agglomération porte sur une fraction seulement des noyaux qui, au nombre de 3 à 30, se rassemblent en petits amas dans une zone cytoplasmique limitée : ainsi apparaissent de véritables cellules plurinucléées (fig. II - 9 g). Celles-ci se constituent à tous les niveaux de la gonade. Mais c'est dans la zone terminale de l'ovaire qu'elles prennent leur plus grande extension. On y rencontre, en effet, tous les intermédiaires entre l'ovocyte typique, uninucléé, et l'étendue cytoplasmique indivise occupant la totalité de la zone dans laquelle de nombreux noyaux d'aspect analogue ou de types divers, sont groupés ou répartis sans ordre (fig. II - 9 h). Parfois, le rassemblement des noyaux peut être si dense que la figure formée, impossible à analyser, rappelle l'amas géant hyperchromatinien. Ainsi la perte d'individualité nucléaire s'associerait à la perte d'individualité cellulaire.

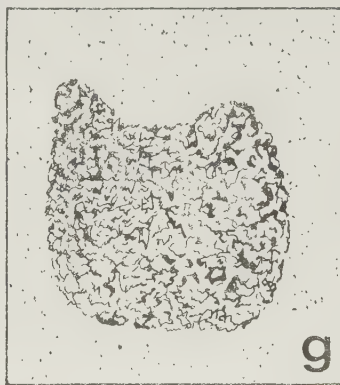
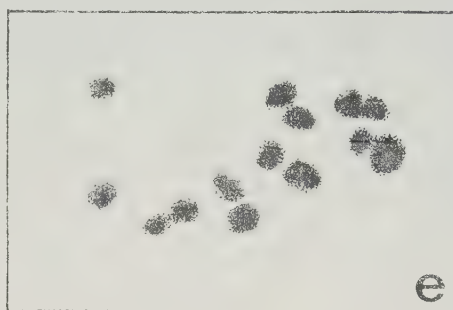
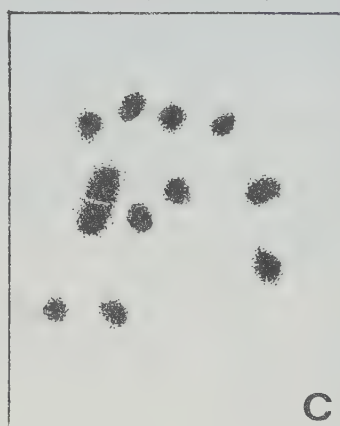
B - LES MODIFICATIONS DE LA GAMETOGENESE AU COURS DU VIEILLISSEMENT DES NEMATODES

Dans toutes les conditions expérimentales employées (sauf pour les animaux soumis à des températures immédiatement stérilisantes), on constate que les animaux jeunes sont fertiles : la stérilité s'installe ensuite, plus ou moins vite selon les conditions. Il paraissait donc nécessaire d'examiner l'évolution de la gamétogenèse chez l'animal adulte à mesure de son vieillissement afin de saisir l'avènement de la stérilité sur le plan de la cytologie.

Pour cela, on a examiné un certain nombre d'individus dans chaque type d'expériences. Ces individus ont été prélevés à des moments définis de la période de reproduction caractéristique de l'expérience étudiée. En général, on a étudié d'abord des individus en fin de phase mâle qui se sont toujours montrés normaux. Ensuite, on a examiné des individus en début de production ovogénétique, puis au milieu et à la fin de leur phase de fertilité. Enfin, on a prélevé des individus devenus stériles. A ces divers stades, les anomalies cytologiques ont été répertoriées et dénombrées. Ainsi l'évolution de l'ovogenèse, chez les

FIGURE II - 9 - Les principaux types de modifications
des structures gamétogénétiques

- Figure II - 9 a : Diacinèse ovogénétique normale : 6 bivalents (x 2400)
- Figure II - 9 b et c : Déconjugaison diacinétique (x 2400)
Fig. II-9 b : 5 bivalents 2 univalents
Fig. II-9 c : 1 bivalent 10 univalents
- Figure II - 9 d : Ovocyte diacinétique octoploïde : 48 chromosomes (x 700)
- Figure II - 9 e : Noyau diacinétique polysomique : 6 bivalents
2 univalents (x 2400)
- Figure II - 9 f : Noyau géant hyperchromatinien au niveau d'un ovocyte diacinétique (x 700). (Comparer la taille de ce noyau à ceux normaux de la figure II-9 g, au même grandissement).
- Figure II - 9 g : Ovocyte diacinétique plurinucléé (x 700)
- Figure II - 9 h : Structure de la zone diacinétique et du début de l'utérus en fin de période féconde chez des Nématodes transférés directement de 18 à 23°5 (x 400) (cf. tableau II - 8)
- A : noyaux de type pachytène, agglomérés -
G : oeuf avec noyaux géants hyperchromatinien
O : oeuf avec noyaux normaux et pycnotiques -
P : noyaux pycnotiques -
S : spermatozoïdes



individus maintenus à 18°, a été résumée dans le tableau II - 6.

La même opération a été répétée dans six autres situations, soit :

- lignée acclimatée à 23°5 depuis 406 générations : tableau II-7
- 1ère génération à 23°5 après transfert direct de 18 à 23°5 : tableau II - 8.

- lignée adaptée à 23°5 depuis 406 générations mais descendue à la température de 18°, soit pendant 1 génération (tableau II - 9), soit pendant 20 générations (tableau II - 10).

- 1ère génération de retour à 23°5, après cette descente à 18° d'une génération seulement (tableau II- 11) ou de 20 générations (tableau II - 12).

Pour chaque stade, le nombre de gonades observées a varié, selon les expériences, entre 4 et 42, avoisinant le plus souvent la vingtaine. Dans ces conditions, il ne faut accorder aux chiffres et proportions mentionnés dans les tableaux qu'une valeur indicative.

1) EVOLUTION DE LA GAMETOGENESE DANS LES SOUCHES ADAPTEES A 18° ET 23°5 (tableaux II - 6 et II - 7)

De la comparaison des tableaux II - 6 et II - 7, il ressort nettement que l'évolution de la gamétogenèse chez les animaux acclimatés à 23°5 est approximativement la même qu'à 18°. Tout au plus doit-on remarquer que si, à 18°, les modifications diacinétiqes les plus caractéristiques sont les ovoocytes plurinucléés et les noyaux géants, dans la souche adaptée à 23°5, les noyaux géants sont peu fréquents : l'anomalie la plus typique s'avère être la déconjugaison.

2) EVOLUTION DE LA GAMETOGENESE CHEZ LES NEMATODES TRANSPORTES DIRECTEMENT DE 18 à 23°5 (tableau II - 8)

Dans ces conditions, le comportement de la gamétogenèse diffère considérablement de celui décrit dans le paragraphe précédent. Les altérations apparaissent en effet très précocement, puisqu'on les décèle dès la fin de la spermatogenèse. Elles semblent, en outre, porter en premier lieu sur la multiplication des gonies dans la zone germigène. Puis elles touchent la phase diacinéti-

PROPORTIONS DE NEMATODES AVEC ANOMALIES CYTOLOGIQUES

O V O G E N E S E

Stade du vieillissement observé	zone germinogène	zone synaptique	zone pachytène	zone diacrinétique	Oeufs	Nombre de spermatozoïdes	NOMBRE MOYEN DE DESCENDANTS
DEBUT DE LA PERIODE FECONDE (4 j.1/2)						# 400	De 4 j. 1/2 à 6 jours =
MILIEU DE LA PERIODE FECONDE (7 jours)				20% = - derniers ovocytes plurinucléés - noyaux géants	40% = quelques noyaux géants parmi les oeufs normaux	80 à 100	52,6 - - - - - De 6 j. à 7 j. 1/2 = 68,1 - - - - -
FIN DE LA PERIODE FECONDE (9 jours)	20% = rares noyaux géants	10% = extension du synapsis aux dépens du pachytène	100% = - ovocytes plurinucléés - nombreux noyaux géants 30% = noyaux agglomérés 10% = polyploïdie - désynapsis	100% = - ovocytes plurinucléés - très nombreux noyaux géants - assez nombreux désynapsis polyploïdie	100% = - noyaux géants - encore quelques oeufs normaux	45% = 30 35% = 20 20% = 0	26,1 Au-delà de 7 j. 1/2 =
ANIMAUX STERILES (10 jours)	100% = - assez nombreux noyaux géants pycnot. agglom. - dispersion chromatinienne	100% = plus de synapsis	100% = - assez fréquents noyaux agglom. géants - disparition du rachis	100% = - ovocytes plurinucléés - très nombreux noyaux géants - assez nombreux désynapsis polyploïdie	100% = tous les oeufs normaux - noyaux géants surtout - noyaux pycnotiques	100% = 0	Récondité totale moyenne = 146,8 ± 15,4

TABLEAU II - 6 - MODIFICATION DE LA GAMETOGENESE LORS DU VIEILLISSEMENT DES NEMATODES A LA TEMPERATURE HABITUELLE D'ELEVAGE : 18°

- 20% = rares noyaux géants : 20% des gonades étudiées présentent de rares noyaux géants hyperchromatiques
- L'absence d'indications signifie absence d'anomalies.

PROPORTIONS DE NEMATODES AVEC ANOMALIES CYTOLOGIQUES

Stade du vieillis- sement observé	O V O G E N E S E				OEUFs	Nombre de sperma- tozoïdes	NOMBRE MOYEN DE DESCENDANTS
	zone germinifère	zone synaptique	zone pachytène	zone diacinétique			
DEBUT DE LA PERIODE FECONDE (3 jours)						80% = 200 20% = 150	De 3 jours à 3 j 1/2 = 25,1
MILIEU DE LA PERIODE FECONDE (3 jours 1/2)				90% = quelques structures désynaptiques parmi les noyaux normaux	10% = pas d'oeufs 90% = quelques structures pyncnotiques parmi les oeufs normaux	85% = 20 à 100 15% = 10	
FIN DE LA PERIODE FECONDE (4 jours)	15% = rares noyaux géants		50% = rares noyaux polyploïdes	100% = quelques noyaux normaux - surtout structures désynaptiques - quelques ovocytes plurinuéclés - rares noyaux géants	100% = mélange d'oeufs normaux et pyncno- tiques 20% = en outre, quelques noyaux géants	70% = 10 30% = 0	de 3 j 1/2 à 4 jours 11,3
ANIMAUX STERILES (5 jours)	100% = - rares noyaux normaux - surtout des noyaux géants, polyploïdes et pyncnotiques - quelques noyaux agglomérés et dispersion chromatinienne	100% = plus de synapsis	100% = - noyaux normaux encore fréquents - quelques noyaux polyploïdes et agglomérés - zone réduite	100% = - structures désy- naptiques - noyaux géants, polyploïdes, agglomérés, pyncnotiques	100% = pyncnose et quelques noyaux géants	100% = 0	FECONDITE TOTALE MOYENNE = 36,4 ± 4,6

TABLEAU II - 7 - MODIFICATIONS DE LA GAMETOGENESE LORS DU VIEILLISSEMENT DES NEMATODES APPARTENANT
A LA 406ème GENERATION ADAPTEE A 23°5

- 15% = rares noyaux géants : 15% des gonades étudiées présentent, parmi les noyaux normaux, de rares noyaux géants.
- L'absence d'indications signifie absence d'anomalies

PROPORTIONS DE NEMATODES AVEC ANOMALIES CYTOLOGIQUES

Stade du vieillissement observé	O V O G E N E S E			OEUFs	Nombre de spermatozoïdes	NOMBRE MOYEN DE DESCENDANTS
	zone germinigène	zone synaptique	zone pachytène	zone diacrinétique		
DEBUT DE LA PERIODE RECONDE (3 jours)	100% = Majorité des noyaux en prométaphase. - quelques noyaux pycnotiques et désorganisés 80% = Extension de la zone	100% = zones réduites	20% = Rares ovocytes plurinucléés 10% = rares ovocytes anucléés	20% = quelques oeufs anormaux (noyaux géants)	200 200	De 3 jours à 3 j. 1/2
MILIEU DE LA PERIODE RECONDE (3 j. 1/2)	100% = - zone très volumineuse - noyaux pycnotiques ou désorganisés - quelques noyaux géants ou agglomérés	100% = zones très réduites	100% = - quelques ovocytes normaux - ovocytes plurinucléés et anucléés - noyaux agglomérés - quelques noyaux géants	100% = quelques oeufs normaux parmi les anormaux (noyaux géants, quelques pycnotiques)	40% = 20 30% = 10 20% = 40 10% = 0	= 5,9
FIN DE LA PERIODE RECONDE (4 jours)	100% = - idem mais en plus accentué - proportion plus forte de noyaux géants	100% = n'existent plus	100% = - surtout noyaux agglomérés, géants, pycnotiques (cf figure II - 9 h) - rares ovocytes normaux - rares figures désynaptiques	100% = rares oeufs normaux - noyaux géants - rares pycnoses	40% = 2 à 10 60% = 0	De 3 j. 1/2 à 4 jours = 1,2
ANIMAUX STERILES (5 jours)	100% = idem mais agglomération des noyaux qui se colorent mal	100% = n'existent plus	100% = Idem mais colorabilité faible	80% = que des oeufs anormaux (noyaux géants) 20% = plus d'oeufs	90% = 0 10% = 2 à 10	RECONDITE TOTALE MOYENNE 7,1 + 2,2

LA GONADE SE VIDE

TABEAU II - 8

MODIFICATIONS DE LA GAMETOGENESE LORS DU VIEILLISSEMENT DES NEMATODES APPARTENANT A LA PREMIERE GENERATION A 23°5, A LA SUITE DU TRANSFERT DIRECT DE 18 à 23°5

100 % = majorité des noyaux en prométaphase : toutes les gonades observées montrent, dans cette zone, une majorité de noyaux prométaphasiques.

PROPORTIONS DE NEMATODES AVEC ANOMALIES CYTOLOGIQUES

Stade du vieillissement observé	O V O G E N E S E				OEUFs	Nombre de spermatozoïdes	NOMBRE MOYEN DE DESCENDANTS
	zone germigène	zone synaptique	zone pachytène	zone diacinétique			
DEBUT DE LA PERIODE FECONDE (4 j. 1/2)						# 400	de 4 jours 1/2 à 6 jours = 59,4
MILIEU DE LA PERIODE FECONDE (7 jours)						100 à 150	de 6 jours à 7 j 1/2 = 82,8
FIN DE LA PERIODE FECONDE (9 j 1/2)			75% = zone normale mais réduite	5% = ovocyte plurinuécléé en fin de zone avec noyaux géants		40 à 80	au-delà de 7 j 1/2 = 93,6
ANIMAUX STERILES (10 j 1/2)	10% = 2 à 3 noyaux tétraploïdes parmi les noyaux normaux	100% = zone réduite 20% = ovocytes diacinétiques intercalés parmi les noyaux pachytènes	30% = ovocytes plurinuécléés avec noyaux géants	70% = - que 3 ou 4 oeufs peu segmentés - dont 10% = noyaux géants 30% = nombreux oeufs très segmentés (anormaux ?)		10 à 40	FECONDITE TOTALE MOYENNE = 235,8 ± 16,8

TABLEAU II - 9 - MODIFICATIONS DE LA GAMETOGENESE LORS DU VIEILLISSEMENT DES NEMATODES APPARTENANT A LA PREMIERE GENERATION A 18° APRES DESCENTE DE 23°5 à 18°

- 75% = zone normale mais réduite : 75% des gonades étudiées montrent une extension réduite de cette zone sans qu'il soit possible d'y déceler des anomalies cytologiques (- l'absence d'indications signifie absence d'anomalies)

Stade du vieillissement observé	PROPORTIONS DE NEMATODES AVEC ANOMALIES CYTOLOGIQUES				OEUFs :	Nombre de spermatozoaires	NOMBRE MOYEN DE DESCENDANTS
	zone germinigène	zone synaptique	zone pachytène	zone diakinetique			
DEBUT DE LA PERIODE FECONDE (4 j 1/2)						# 400	de 4 jours 1/2 à 6 jours = 65,2
MILIEU DE LA PERIODE FECONDE (7 jours)						100 à 150	de 6 jours à 7 jours 1/2 = 77,6
FIN DE LA PERIODE FECONDE (9 j 1/2)	40% = zone normale mais réduite		50% = zone normale mais réduite	40% = ovocytes pluri-nucléés - dont 25% avec noyaux géants et 15% avec noyaux agglomérés	50% = quelques noyaux géants parmi les oeufs normaux	30% = 40 60% = 30 10% = 20	au-delà de 7 jours 1/2 = 47,5
ANIMAUX STERILES (10 j 1/2)	80% = zone normale mais réduite - dont 20% = quelques noyaux géants et rares noyaux pycnot. ou agglom.	90% = zone normale mais réduite 10% = intercalation de noyaux pachytènes	80% = zone normale mais réduite 20% = intercalation de noyaux synaptiques ou diakinétiques	100% = ovocytes pluri-nucléés - noyaux géants - quelques noyaux agglomérés	100% = tous les oeufs sont anormaux surtout noyaux pycnotiques	50% = 20 10% = 10 40% = 0	FECONDITE TOTALE MOYENNE 190,1 ± 18,1

TABLEAU II - 10 - MODIFICATIONS DE LA GAMETOGENESE LORS DU VIEILLISSEMENT DES NEMATODES APPARTENANT A LA 20ème GENERATION A 18° APRES DESCENTE DE 23°5 à 18°

- 40% = zone normale mais réduite : 40% des gonades étudiées présentent une zone moins étendue que normale
- L'absence d'indications signifie absence d'anomalies.

Stade du vieillissement observé	PROPORTIONS DE NEMATODES AVEC ANOMALIES CYTOLOGIQUES				OEUFs	Nombre de spermatozoïdes	NOMBRE MOYEN DE DESCENDANTS
	zone germinogène	zone synaptique	zone pachytène	zone diacinétique			
DEBUT DE LA PERIODE FECONDE (3 jours)				5% = Rares structures désynaptiques en fin de zone		300	
MILIEU DE LA PERIODE FECONDE (3 j 1/2)	20% = un ou deux noyaux géants parmi les noyaux normaux			30% = normale 70% = structures normales et structures désynaptiques - dont 20% = ovocytes plurinucléés - et 10% = rares noyaux polyploïdes	40% = normaux 60% = quelques oeufs anormaux a noyaux pycnot. 5% = noyaux géants dans un oeuf	100 à 150	400 ± 7,1
FIN DE LA PERIODE FECONDE (4 jours)	90% = quelques noyaux géants et pycnotiques		50% = zone réduite	100% = - structures désynapt. plus nombreuses - quelques ovocytes plurinucléés, noyaux polyploïdes et aggl. - rares noyaux normaux et géants	100% = - rares oeufs normaux - surtout de la pycnose - quelques noyaux géants	80% = 40 à 60 20% = 10 à 20	
ANIMAUX STERILES (5 jours)	100% = que des noyaux géants, pycnotiques et agglomérés quelques dispersions chromatiniennes	100% = zones réduites quelques noyaux agglomérés et polyploïdes, surtout pachytènes		100% = - plus de noyaux normaux - ovocytes plurinucléés ou anucléés - noyaux désynaptiques agglomérés et géants	100% = - peu d'oeufs - noyaux pycnotiques, quelques fois géants	10% = 2 à 10 90% = 0	

TABLEAU II - 11 - MODIFICATIONS DE LA GAMETOGENESE LORS DU VIEILLISSEMENT DES NEMATODES APPARTENANT A LA 1^{ère} GENERATION DE RETOUR à 23°5 APRES UNE DESCENTE D'UNE GENERATION A 18°

- 20% = un ou deux noyaux géants : 20% des gonades étudiées montrent, parmi les noyaux normaux, la présence d'un ou deux noyaux géants hyperchromatiniens.
- L'absence d'indications signifie l'absence d'anomalies

PROPORTIONS DE NEMATODES AVEC ANOMALIES CYTOLOGIQUES							
Stade du vieillissement observé	O V O G E N E S E				OEUFs	Nombre de spermatozoïdes	NOMBRE MOYEN DE DESCENDANTS
	zone germinigène	zone synaptique	zone pachytène	zone diacinétique			
DEBUT DE LA PERIODE FECONDE (3 jours)	100% = prométaphases prédominantes 10% = quelques noyaux géants			30% = quelques structures désynaptiques parmi les noyaux normaux	20% = noyaux pycnotiques dans quelques oeufs	200 à 300	20,3 + 4,8
MILIEU DE LA PERIODE FECONDE (3 j 1/2)	100% = mélange noyaux normaux et géants ou agglomérés - dispersion chromatiniene	50% = zone normale mais réduite	80% = zone réduite - dont 30% = rares noyaux polyploïdes	10% = normale 90% = mélange de structures normales et désynaptiques - dont 20% avec ovocytes plurinucléés et noyaux géants	10% = 0 90% = oeufs normaux et anormaux (pycnose)	10% = 60 à 100 90% = 50 à 150	
FIN DE LA PERIODE FECONDE (4 jours)	100% = idem mais noyaux normaux rares - quelques noyaux pycnot.	100% = zone réduite	100% = zone très réduite - quelques noyaux polyploïdes	100% = structures désynaptiques - 60% avec ovocytes plurinucléés, noyaux géants et agglomérés	20% = 0 80% = très rares oeufs normaux - noyaux pycnot. parfois géants	70% = 10 à 40 30% = 0 à 10	
ANIMAUX STERILES (5 jours)	100% = - noyaux géants, pycnotiques, agglomérés - dispersion chromatiniene - colorabilité faible	100% = plus de figures synaptiques, pachytènes et diacinétiques typiques - rares noyaux agglomérés, géants, pycnot. - rare dispersion chromatiniene - colorabilité faible			100% = oeufs (?) aberrants remplis de noyaux pycnotiques et géants	100% = 0	
LA GONADE A TENDANCE A SE VIDER							

TABIEAU II - 12 - MODIFICATIONS DE LA GAMETOGENESE LORS DU VIEILLISSEMENT DES NEMATODES APPARTENANT A LA 1ère GENERATION DE RETOUR A 23°5, APRES UNE DESCENTE DE 20 GENERATIONS à 18°

- 100% = Prométaphases prédominantes : La totalité des gonades étudiées montre, dans cette zone, une prédominance marquée et anormale des figures prométaphasiques

- l'absence d'indications signifie absence d'anomalies

que de croissance des ovocytes qui est alors très faiblement représentée, tandis que se généralisent les structures nucléaires anormales. Enfin, conséquence probable du blocage des divisions goniales, l'ovaire se vide.

3) EVOLUTION DE LA GAMETOGENESE DANS LES LIGNEES ADAPTEES A 23°5 MAIS AYANT SUBI UN PASSAGE A 18° (tableaux II - 11 et II - 12)

En comparant les tableaux II - 11 et II - 12 entre eux et avec les tableaux précédemment cités, deux constatations peuvent être faites :

- a) le passage des Nématodes acclimatés depuis 406 générations à 23°5, pendant une seule génération à 18° (tableau II - 11) s'avère sans conséquences notables sur les processus méiotiques. Il est intéressant de noter que la fécondité des Nématodes n'est pas significativement différente dans les deux cas : $40,0 \pm 7,1$ et $36,4 \pm 4,6$.
- b) lorsque les animaux ont séjourné 20 générations à 18°, le retour à 23°5 (tableau II - 12) entraîne de nettes analogies avec l'ovogenèse de la première génération 18 → 23°5 (tableau II - 8). Cependant, cette gamétogenèse conserve au moins une des particularités de la lignée maintenue à 23°5 : dans les deux cas, la déconjugaison des bivalents est un aspect caractéristique. Ce caractère intermédiaire des altérations cellulaires s'accorde avec les chiffres que fournit l'étude de la fécondité.

4) EVOLUTION DE LA GAMETOGENESE DANS LES LIGNEES ADAPTEES A 23°5 MAIS TRANSPLANTEES ENSUITE A 18° (tableaux II - 9 et II - 10)

Aussi bien dans le cas de la 1ère génération effective à 18° (tableau II - 9) que dans celui de la 20ème génération passée à cette température (tableau II - 10), les anomalies apparaissent plus tardivement que chez les Nématodes maintenus constamment à 18° (tableau II - 6). Cette question de délais mise à part, l'évolution de la gamétogenèse semble se réaliser de façon analogue à ce que l'on voit dans la souche à 18°. Ainsi les déconjugaisons diacinétiqes qui caractérisaient la souche adaptée à 23°5 ne se produisent plus.

Signalons encore, car elle est ici particulièrement manifeste, la liaison entre le moment où apparaissent les transformations ovogénétiques et les modifi-

cations de la fécondité. Les altérations sont les plus tardives dans le cas de la 1ère génération à 18° : le taux de reproduction des Nématodes y est alors le plus élevé : $235,8 \pm 16,8$ au lieu des $146,8 \pm 15,4$ caractéristiques de la souche maintenue à 18°. Après 20 générations à 18°, la fécondité s'abaisse à $190,1 \pm 18,1$ et les perturbations de l'ovogenèse sont plus précoces.

C - CONCLUSIONS

L'analyse cytologique fournit donc des indications sur les processus qui commandent ou limitent la fécondité des Nématodes. Elle nous conduira également à des hypothèses sur le déterminisme physiologique de l'adaptation.

1) LES VARIATIONS DE LA FECONDITE

Trois mécanismes pouvaient être responsables d'une diminution ou d'un arrêt de la reproduction :

- altération du développement embryonnaire ou larvaire ;
- désorganisation de la spermatogenèse ;
- perturbation de l'ovogenèse.

Tout concourt à incriminer ce dernier processus.

Un certain nombre d'arguments ressortent clairement de l'analyse précédente

- a) Dans toutes les conditions examinées, le parallélisme entre la production d'ovocytes anormaux et l'instauration de la stérilité est trop évident pour qu'on puisse le considérer comme fortuit. Il n'est pour s'en convaincre, que de suivre l'évolution de la fécondité lors du vieillissement des Nématodes élevés continuellement à 18° ou descendus de 23°5 à cette température : on constate alors (tableau II - 13) que la fécondité diminue surtout lorsque les animaux dépassent 7 jours 1/2, âge critique à partir duquel les anomalies ovogénétiques se multiplient.
- b) Aucune anomalie morphologique n'a été constatée au cours de la spermatogenèse
- c) Les modifications ovogénétiques précèdent constamment les transformations

SOUCHE	FECONDITE MOYENNE	FECONDITE MOYENNE
	JUSQU'A L'AGE DE 7 JOURS 1/2	DES ANIMAUX AU-DELA DE 7 JOURS 1/2 DE DEVELOPPEMENT
23°5 → 18° (1ère génération)	142,2	93,6
23°5 → 18° (20ème génération)	142,8	47,5
18°	120,7	26,1

TABLEAU II - 13 - EVOLUTION DE LA FECONDITE MOYENNE DES NEMATODES,
 APPARTENANT A DES LIGNEES DIFFERENTES, EN FONCTION
 DE LEUR VIEILLISSEMENT A 18°

(Les Nématodes descendus de 23°5 à 18° sont issus de la 412ème génération
 à 23°5 - Milieu 2,3 S - Modalité expérimentale II)

visibles des oeufs : elles sont donc incontestablement à leur origine.

D'autres données que, pour simplifier l'exposé, je n'ai pas encore relatées, vont dans le même sens :

- a) Le développement embryonnaire ou larvaire manifeste une résistance considérable vis-à-vis des températures élevées. Ainsi des oeufs âgés de 0 à 24 heures, prélevés à 13° et transportés à 20°5 - 25° - 26° et même 28°, se développent à ces températures : ils fournissent toutefois des adultes stériles.
- b) Si la spermatogenèse ne montre pas d'anomalies morphologiques, les modifications de la fécondité pourraient cependant être attribuées
 - soit à la limitation du stock de spermatozoïdes ;
 - soit à l'existence de spermatozoïdes inactifs.

Or la production dénombrée de spermatozoïdes varie au maximum dans le rapport de 1 à 2 : les variations du nombre de spermatozoïdes ne peuvent donc pas expliquer les grandes variations observées dans la fécondité. En revanche, on peut supposer que les ovocytes plurinucléés ou les masses cytoplasmiques énormes qu'ils forment sont susceptibles d'entraîner des groupes de spermatozoïdes stockés dans le réceptacle séminal. Il n'est donc pas étonnant que les spermatozoïdes disparaissent rapidement chez les animaux inféconds (tableau II-8).

Pour ce qui concerne l'existence éventuelle de spermatozoïdes inactifs, on constate que si l'on ramène à 18° des adultes qui se sont formés à température élevée, leur fécondité est immédiatement relevée. Ainsi, dans une expérience, un lot de jeunes adultes a été descendu de 23° à 18°. Leur fécondité moyenne a été de 115,7 alors que celle des témoins à 23° était de 78,6 et celle des témoins à 18° : 141,5. Cette augmentation de fécondité peut être mise au compte - et c'est mon opinion - d'une augmentation du nombre d'ovocytes normaux formés à 18°. Néanmoins, on peut supposer aussi qu'à 18° le nombre de spermatozoïdes actifs dépasse celui des spermatozoïdes qui fonctionnent normalement à 23°. Cela conduirait à admettre qu'une partie des spermatozoïdes produits à 23°, sous une forme originellement active, se trouverait inactivée par le séjour à température élevée qui correspondrait à une sorte de vieillissement accéléré des spermatozoïdes. Il s'agit là, pour le moment, d'hypothèses difficiles à vérifier.

complètement. On notera toutefois que les arguments en leur faveur sont faibles, tandis que de nombreux faits indiscutables militent en faveur d'une limitation intervenant au niveau de l'ovogenèse.

2) LA SIGNIFICATION PHYSIOLOGIQUE DE L'ADAPTATION

Si la stérilité des Nématodes inadaptés est due à une ovogenèse anormale, il s'en suit que l'adaptation résulte d'une modification compensatrice intervenue dans la physiologie de la gonade. Que peut-on dire au sujet de la nature de cette modification ?

Une première constatation résulte de l'examen des individus adaptés à température élevée et ramenés à 18°. Nous avons vu que, chez ces individus, les traits qui définissent, sur le plan cytologique, le caractère stérile d'un ovaire, apparaissent plus tardivement que chez les témoins. D'autre part, si on examine la fécondité de ces individus en fonction d'une coupure établie arbitrairement vers la fin de la période féconde (tableau II - 13), on constate que dans les premiers jours de cette période, la fertilité des témoins (souche à 18°) et des animaux transplantés n'est guère différente. En revanche, au-delà de 7 jours 1/2, la différence est très importante : tout se passe donc comme si la fécondité accrue des individus transplantés était due à une simple prolongation de la période féconde. Ainsi, lorsqu'on les place tous à la même température de 18°, les animaux acclimatés à température élevée se caractérisent par une évolution plus lente vers la gonade infonctionnelle que l'on pourra qualifier de sénile.

L'examen des individus, acclimatés et non acclimatés, portés à température élevée, fournit un élément de comparaison parallèle. On y trouve les mêmes anomalies de structure ovocytaire. Cependant, ces anomalies apparaissent dès le début de l'ovogenèse chez les individus non acclimatés, tandis que, dans une souche adaptée, elles se produisent un peu plus tard seulement et permettent donc la formation régulière d'un nombre appréciable d'ovocytes. On peut donc considérer que la température élevée entraîne une évolution accélérée de l'ovaire vers un état "déséquilibré" et improductif. Dans ces conditions, l'acclimatation apparaît comme une aptitude à subir plus lentement ces modifications qui caractérisent le vieillissement de la gonade.

Toutefois, cette façon de voir ne paraît pas tout expliquer. Nous avons

vu, en effet, que les animaux non acclimatés montrent, à côté des altérations nucléaires caractéristiques de la gonade sénescence, une structure très particulière de l'ovaire. Celle-ci se traduit par une réduction extrême des zones du synapsis et du pachytène au profit d'un accroissement du germigène. Tout se passe comme si le franchissement des premiers stades de la méiose se trouvait bloqué dans la plus grande partie des ovogonies. Il s'agit là d'une altération précoce dont on ne trouve aucun parallèle dans la souche témoin à 18°. Peut-être faut-il expliquer par ce mécanisme la fait que les animaux portés de 18° à 23° possèdent moins de spermatozoïdes que les individus de la souche à 18° : dans ce cas, on serait conduit à admettre que l'évolution de la spermatogenèse elle-même marque, finalement, une certaine sensibilité vis-à-vis de la température élevée.

En définitive, le processus d'acclimatation paraît s'exprimer en deux points :

- les animaux adaptés à température élevée se distinguent des animaux non acclimatés par un certain retard dans la production des figures qui caractérisent la sénescence de l'ovaire. Ce retard est visible quelle que soit la température à laquelle est effectuée la confrontation ;

- les animaux non acclimatés réagissent à la température élevée par un certain blocage de la méiose qui se trouve levé chez les individus adaptés,

DISCUSSION

Les problèmes que pose la stabilisation progressive des mécanismes adaptatifs responsables de l'accoutumance de C. elegans aux températures élevées seront abordés dans la troisième partie. Je n'examinerai donc ici que des questions relatives à la physiologie de l'adaptation.

A - PROPRIETES PHYSIOLOGIQUES DES NEMATODES ADAPTES AUX TEMPERATURES ELEVEES

Les oeufs embryonnés sont très résistants aux températures élevées, qu'ils soient fournis par une souche adaptée ou non. Ainsi la fécondité particulière de Nématodes adaptés ne peut être imputée qu'au fonctionnement de la glande génitale. Dans les conditions thermiques que j'ai employées, le fonctionnement de la gonade ne paraît guère affecté dans sa phase initiale. C'est lorsque la gonade fonctionne comme ovaire que des structures anormales se révèlent conduisant à la production d'ovocytes inviables et à l'épuisement de l'ovaire. Il est intéressant de constater que ces modifications s'observent également à la température habituelle d'élevage, c'est-à-dire 18°, sous l'effet du vieillissement : elles se présentent donc comme des constantes de la phase femelle. Dans le cours du processus d'accoutumance interviennent donc des mécanismes qui modifient l'extension respective des diverses anomalies ovocytaires et freinent leur apparition trop précoce par rapport au développement général de l'organisme. En définitive, l'adaptation de C. elegans se présente essentiellement comme une régulation des processus de croissance et de différenciation au niveau de l'ovogenèse. La diminution de taille des Nématodes* d'une part, confirme la modification des équilibres de croissance chez les animaux adaptés, d'autre part révèle que cette régulation s'exerce non seulement au niveau de l'ovaire mais aussi en ce qui concerne la croissance générale. A ce sujet d'ailleurs, il est peut-être bon de remarquer que la diminution de taille d'un animal en fonction de la température d'adaptation a été souvent signalée : ainsi, à propos des Paramécies, par HERTWIG (1903) et POLJANSKY (1957).

On se trouve donc conduit à supposer que l'action principale des températures élevées s'exerce au niveau des déséquilibres caractéristiques du vieillissement de l'ovaire. Chez un animal bien adapté, ces processus séniles s'installent relativement tard et permettent dès lors la production d'une certaine descendance. Chez un animal non adapté, le vieillissement est au contraire très

* A 24°5, la lignée accoutumée à cette température depuis 41 générations mesure 0,84 mm $\pm$ 0,06 de long ; par contre, la 1ère génération à 24°5 issue du transfert direct de la souche maintenue constamment dans les conditions habituelles d'élevage de 18° mesure 1,08 mm $\pm$ 0,05.

précoce : s'il se fait sentir dès le début de la production ovogénétique, toute descendance se trouve exclue.

Les mécanismes mis en jeu sont peut-être analogues à certains de ceux qui fournissent à divers Métazoaires poïkilothermes la possibilité d'opérer une acoutumance physiologique aux températures élevées (BĚLEHRÁDEK 1957 ; MELLANBY 1953 ; PRECHT et al. 1955 ; MAYNARD-SMITH 1957 ; PROSSER 1958 ; FRY 1958 ; LEVITT 1958 ; PROSSER et al. 1961 ; MILKMAN 1962).

Diverses explications - entre lesquelles les prolongements envisagés à ce travail permettront peut-être de choisir - ont été avancées par les auteurs :

1° - Stabilisation des lipides par modification progressive du degré de saturation des acides gras, ce qui a pour effet d'élever graduellement le point de fusion (théorie lipoïdique de BĚLEHRÁDEK 1935 et HEILBRUNN 1950 - voir aussi FRAENKEL et HOPE 1940).

2° - Stabilisation des protéines par modification de leurs associations avec l'eau (KLINGENBERG 1952 ; CHRISTOPHERSEN et PRECHT 1953 ; LIEMBKE et KAUFMANN 1954 ; PRECHT et al. 1955 ; BOWLER 1963 ; RING et CHRISTOPHERSEN 1964).

3° - Stabilisation dynamique des taux enzymatiques (théorie dynamique d'ALLEN 1950). Le déséquilibre entraîné par l'inactivation rapide des enzymes aux températures élevées se trouverait progressivement compensé par une accélération au niveau de certains processus de synthèse spécifiques.

B - LE VIEILLISSEMENT DES PARENTS EXERCE-T-IL UNE INFLUENCE SUR LA FECONDITE DE LEURS DESCENDANTS ?

Dans toutes les expériences relatées dans ce travail, ce problème a été esquivé du fait que les géniteurs ont toujours été choisis - dans la descendance d'un reproducteur sélectionné - parmi les animaux qui atteignaient les premiers l'état adulte.

Cependant les études cytologiques qui conduisaient à établir une certaine liaison entre adaptation et sénilité amenaient à envisager quelques expériences dans cette voie. Ces expériences, toutefois, n'ont pas pu être poussées très

loin. En effet, la longue durée de mes expériences imposait le choix d'un nombre très limité de modalités expérimentales. En outre, la multiplication de celles-ci aurait conduit à une diversification des expériences qu'il eût été impossible de maîtriser dans une première étape. Le tableau II - 14 rassemble les résultats d'un ensemble d'expériences effectuées à partir de Nématodes adaptés depuis une centaine de générations à 24°5. Ces animaux (P) ont été transférés à l'état de larves, âgées de 1 jour 1/2 et 2 jours, à 18° sur milieu S où, après avoir atteint l'état adulte, ils se reproduisent pendant 5 jours. La descendance ainsi obtenue (F₁) est ramenée à 24°5 sous la forme d'oeufs : sa fécondité ainsi que le pourcentage de stériles ont été étudiés sur milieu 2,3 S.

Il apparaît que la fécondité des animaux F₁ décroît considérablement en fonction de l'âge atteint par leurs parents P au moment de leur production. La fréquence des cas de stérilité s'accroît parallèlement (des résultats analogues sont obtenus lorsque les F₁ sont reportés et cultivés à 24°5 sur milieu S).

Ces résultats présentent un caractère préliminaire et il serait dangereux de les généraliser imprudemment. Néanmoins, il est permis de se demander si, dans les cultures effectuées entièrement à température élevée, une influence de l'âge parental peut également exister. En fait, les données actuelles ne nous permettent d'apporter à cette question aucune réponse ferme ; cependant, nous verrons, dans la 3ème Partie, que certaines observations peuvent s'expliquer en admettant cette hypothèse. Dans l'immédiat, l'acquisition de données expérimentales sur ce sujet se heurte à un certain nombre de difficultés pratiques : en effet, la variabilité inhérente à la durée du développement conjuguée à la brièveté de la période de reproduction à température élevée ne permettent pas d'obtenir, par un simple examen des cultures, une idée sûre de l'ordre d'émission des descendants issus d'un même parent. L'information correspondante pourra sans doute être acquise au prix d'une sophistication importante des méthodes utilisées ce qui m'a interdit de chercher à l'obtenir dans la phase présente de mon exploration.

Toutefois, l'observation effectuée concernant l'influence exercée par l'âge des parents vient recouper d'autres informations du même ordre (PAPANICOLAU 1910 ; LAUSING 1954 ; DAVID 1962). Conjuguée aux résultats de l'observation cytologique elle nous permet d'imaginer soit que la température élevée intervient comme une

102ème génération à 24°5 ; f = 23,6 ; s = 2,1

24°5

MILIEU

2,3 S

oeufs P

Larves P de 1 j 1/2 à 2 j

Larves P préadultes

Adultes P 1er jour —————> oeufs F₁

Adultes P 2ème jour —————> oeufs F₁ —————> Adultes F₁ : f = 96,3 s = 2,1

Adultes P 3ème jour —————> oeufs F₁ —————> Adultes F₁ : f = 68,0 s = 3,7

Adultes P 4ème jour —————> oeufs F₁ —————> Adultes F₁ : f = 30,2 s = 14,1

Adultes P 5ème jour —————> oeufs F₁ —————> Adultes F₁ : f = 19,9 s = 31,9

MILIEU S

18°

24°5

MILIEU

2,3 S

TABEAU II - 14 - INFLUENCE DU VIEILLISSEMENT DES PARENTS (P) SUR LA FERTILITE DES DESCENDANTS (F₁)
AU COURS D'UNE EXPERIENCE COMPORTANT PASSAGE DES GENITEURS P ET F₁ A LA TEMPERATURE DE 18°

f = fécondité moyenne s = pourcentage de stériles

Effectif total des F₁ dont la fécondité a été étudiée : 298

cause de sénescence accélérée, soit que son influence s'ajoute à celle de la sénescence pour produire les effets que nous avons constatés. Quelle que soit l'interprétation adoptée sur ce point, et malgré l'insuffisance des données expérimentales, cette assimilation entre l'action de la température élevée et celle du vieillissement, nous permet d'émettre l'hypothèse que l'effet cumulatif observé, de génération en génération, au niveau de l'influence de la température, pourra peut-être s'étendre à l'influence de l'âge.

Le caractère cumulatif de ces diverses influences expliquerait fort bien que, lors du passage d'une certaine température à une autre supérieure, la fécondité aille en décroissant, d'une génération à la suivante, jusqu'à stérilité complète. Placé dans le cadre de cette hypothèse, le phénomène d'accoutumance apparaîtrait comme la marche d'un processus susceptible de contrecarrer en partie l'évolution caractéristique de la sénescence, quels que soient les facteurs qui peuvent la déterminer.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

N.B. Se reporter à la première partie de mon exposé, pour les références exactes des travaux suivants : BOETTGER (1956) - BRUN (1955) - DAVID (1962) - JOLLOS (1921) - NIGON et BRUN (1955) - POLJANSKY (1957) - PRECHT et al. (1955) - PROSSER (1958).

ALLEN M.B., 1950. The dynamic nature of thermophily. J. Gen. Physiol., 33, 205-214.

BĚLEHRÁDEK J., 1935. Temperature and living matter. Protoplasma monog. n° 8, 1 vol., Borntraeger, Berlin, 277 p.

BĚLEHRÁDEK J., 1957. Physiological aspects of heat and cold. Ann. Rev. Physiol., 19, 59-82.

BOCHNIG V., 1957. (Communication personnelle). In Brown 1959 : Résistance des Arthropodes aux insecticides. Org. Mond. Santé, n° 38, 210 p.

BOWLER K., 1963. A study of the factors involved in acclimatization to temperature and death at high temperatures in Astacus pallipes. II - Experiments at the tissue level. J. Cell. Comp. Physiol., 62, 133-146.

BRUN J., 1966 a. Influence de la constitution du milieu nutritif sur la fécondité du Nématode Caenorhabditis elegans, à différentes températures (sous presse).

BRUN J., 1966 b. L'adaptation aux températures élevées chez un Nématode : Caenorhabditis elegans Maupas 1900. I - L'adaptation et son développement. Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys. (sous presse).

- CHRISTOPHERSEN J., PRECHT H., 1950. Untersuchungen über die Temperaturabhängigkeit von Lebensprozessen bei Hefen. Biol. Zbl., 69, 300-323.
- COLE M.M., COUCH M.D., BURDEN G.S., GILBERT I.H., 1957. Further studies on resistance of human body lice to insecticides. J. econ. entomol., 50, 556-559.
- DERBENEVA-UKHOVA V.P., 1962. Some data on the development and loss of insecticide resistance in housefly (Musca domestica L) in laboratory and natural conditions. XI Intern. Kong. Entomol. Verhandlg., Wien. II, 451-454.
- EDDY G.W., COLE M.M., COUCH M.D., SELHIME A., 1955. Resistance of human body lice to insecticides. U.S. Publ. Health Repts, 70, 1035-1038.
- EMERSON S., CUSHING J.E., 1946. Altered sulfonamide antagonism in Neurospora. Federation Proc., 5, 379-389.
- FRAENKEL G., HOPE H.S., 1940. The physiological action of abnormally high temperatures on poikilothermic animals. I - Temperature adaptation and the degree of saturation of the phosphatides. Biochem. J., 34, 1085-1092.
- FRY F.E.J., 1958. Temperature compensation. Ann. Rev. Physiol., 20, 207-224.
- GASSER R., 1959. Ueber den Stand der Resistenz von Spinnmilben gegenüber Akariziden. IV Intern. Pflanzenschutz-Kong., Hamburg 1957, I, 643-646.
- HEILBRUNN L.V., 1950. An outline of general physiology. 1 vol., 2^d ed., W.B. Saunders, Philadelphia, 748 p.
- HENDERSON S.A., 1963. Temperature and chiasma formation in Schistocerca gregaria. I - An analysis of the response at a constant 40°C. Heredity, 19, 77-94.
- HERTWIG R., 1903. Ueber Korrelation von Zell-und Kerngrösse und ihre Bedeutung für die geschlechtliche Differenzierung und die Teilung der Zelle. Biol. Zbl., 23, 49-62, 108-119.

- KLINGENBERG H.G., 1952. Experimentelle Beeinflussung der Hitzeoagulation des Ovalbumins. Z. physiol. Chem., 294, p. 16. 23.
- LANISING A.I., 1954. A non-genic factor in the longevity of Rotifers. Ann. N.Y. Acad. Sci., 57, 455-464.
- LEVITT J., 1958. Frost, drought and heat resistance. In Protoplasmologia : Physiol. des Protoplasma, n° 6, Lange et Springer, Berlin, 100 p.
- LIEMBKE A., KAUFMANN W., 1954. Ueber die Bedeutung zwischenmolekularer Kräfte in Proteinen. Kieler milchwirtsch. Forschungsber., 6, 379-385.
- LUCHNIKOVA E.M., 1964. Persistance de la résistance au DDT chez la Drosophile en l'absence d'une sélection entretenant cette résistance (en russe). Vest. leningradsk. Univ., 19, 156-162.
- MAYNARD-SMITH J., 1957. Temperature tolerance and acclimatization in Drosophila subobscura. J. Exp. Biol., 34, 85-96.
- MELLANBY K., 1953. Acclimatization and the thermal death point am insects. Nature, 173, 582-583.
- MILKMAN R., 1962. Temperature effects on day old Drosophila pupae. J. Gen. Physiol., 45, 775-799.
- PAPANICOLAU G., 1910. Experimentelle Untersuchungen über die Fortpflanzungsverhältnisse der Daphniden (Simocephalus vetulus und Moina rectirostris var Lilljeborgii). Biol. Zbl., 30, 689-692, 737-750, 753-774, 785-802.
- PIMENTEL D., SCHWARDT M.M., DEWEY J.E., 1953. Development and loss of insecticide resistance in the housefly. J. econ. Entomol., 46, 295-298.
- PROSSER C.L., BROWN F.A., 1961. Comparative animal physiology. 1 vol., 2d ed., W.B. Saunders, Philadelphia, 688 p.

RING K., CHRISTOPHERSEN J., 1964. Untersuchungen über den Einfluss der Adaptationstemperatur auf die Resistenz und Aktivität der Transaminasen von Hefezellen. Arch. Mikrobiol., 48, 50-65.

SMIRNOV E.S., 1962. Vererbung erworbener Vermehrungsrythmik bei der Blattlaus Neomyzus circumflexus Buckt (Hom. Aphididae). Mitt. für Insektenkunde, 6, 177-184.

L'ADAPTATION AUX TEMPERATURES ELEVEES CHEZ UN NEMATODE :

Caenorhabditis elegans MAUPAS 1900TROISIEME PARTIE - ROLE DES FACTEURS AUTRES QUE LA TEMPERATURE
DANS LE PROCESSUS D'ADAPTATION

J. L. BRUN

Service de Biologie générale et appliquée
Faculté des Sciences de Lyon

S O M M A I R E

A partir d'une souche "psychrophile" de C. elegans, il est possible d'obtenir des lignées génétiquement adaptées à des températures élevées comprises entre 22 et 24°5. L'accoutumance - qui se présente comme la résultante d'un effet cumulatif très lent dans l'action du facteur température - peut devenir relativement stable.

La reproduction strictement autogame de ce Nématode hermaphrodite interdit de rechercher, dans un état hautement hétérozygote, le fond de variabilité génétique qui peut être exploité en vue de la production progressive de l'adaptation.

L'analyse entreprise ne permet d'attribuer au milieu nutritif et à la sélection effectuée qu'un rôle mineur. Par contre, le caractère graduel des modifications de fécondité, le fait que le déroulement de cette évolution s'effectue selon un processus qui paraît se reproduire de façon analogue au cours de chacune des étapes de l'acclimatation, conduisent à supposer que les altérations génétiques correspondantes sont constituées d'une succession de stades de faible importance, étalés au long des générations en expérience.

L'ensemble des observations effectuées oblige à envisager la production progressive d'états cytoplasmiques adaptés et transmissibles, responsables de la réalisation de lignées fécondes à température élevée.

I N T R O D U C T I O N

L'ensemble des observations présentées dans les deux premières parties de ce travail (BRUN 1966 b et c) démontre que la température elle-même remplit une fonction importante dans la réalisation des processus d'adaptation. Cependant on ne peut assurer qu'elle soit le seul facteur en cause : son action s'exerce peut-être de façon indirecte, en relation avec d'autres circonstances qui accompagnent l'adaptation. J'ai cru utile d'examiner spécialement deux hypothèses :

1° - On peut suspecter que la lenteur de l'adaptation s'accompagne de certaines modifications dans les composantes du milieu autres que la température. L'accoutumance observée pourrait être alors, pour une part au moins, la conséquence de ces transformations, en particulier au niveau du milieu nutritif

2° - L'élevage des Nématodes en générations consécutives implique, à chaque génération, un choix parmi l'ensemble des géniteurs possibles. La sélection qui en résulte peut avoir été l'un des éléments moteurs dans la réalisation de l'adaptation.

Les réponses que l'analyse expérimentale apportera à ces deux problèmes nous mettront en mesure de statuer sur les rôles respectifs dévolus aux différents facteurs susceptibles de présider à la naissance et au développement des formes adaptées. A ce niveau donc, il deviendra possible d'envisager la manière dont on peut concevoir le déterminisme de l'adaptation des Nématodes aux températures élevées.

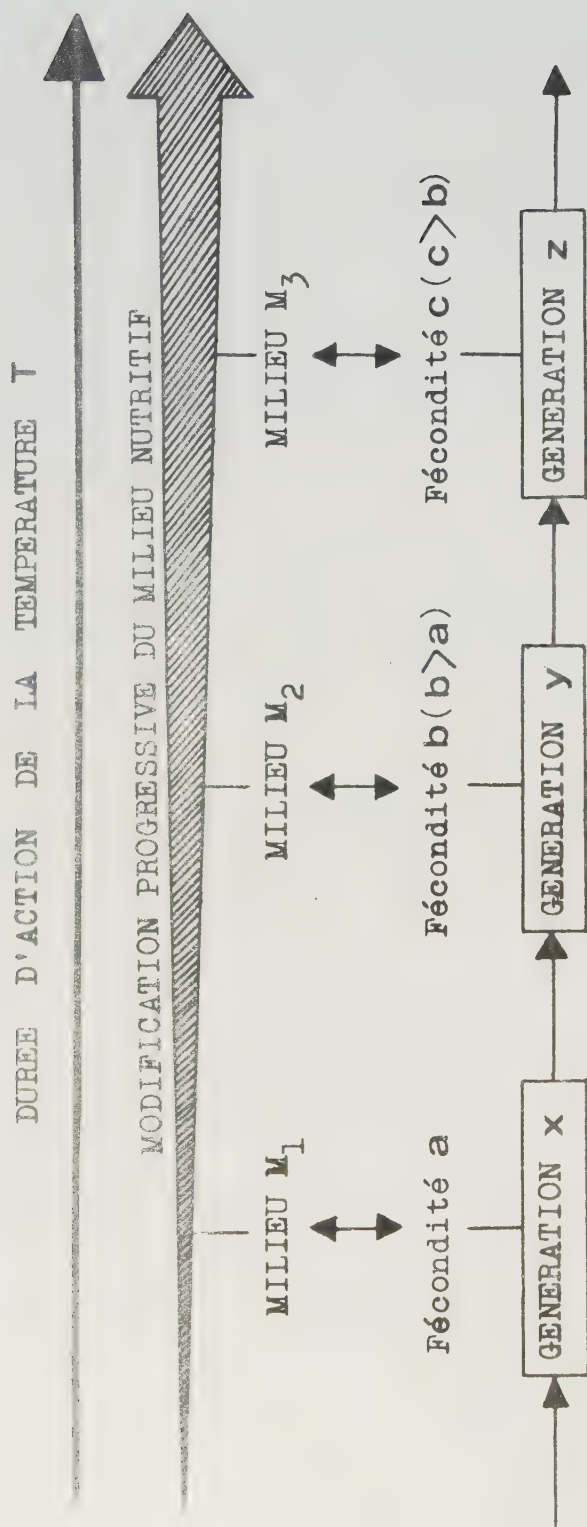


Figure III - 1 - Représentation schématique d'un mécanisme expliquant l'augmentation de fécondité des Nématodes à une température élevée T par une modification progressive du milieu nutritif

R E S U L T A T S

I - ROLE D'EVENTUELLES TRANSFORMATIONS
DU MILIEU NUTRITIF

Certains auteurs s'appuient volontiers sur des insuffisances avouées dans la connaissance du milieu nutritif pour mettre en doute l'existence des adaptations génétiques. Par exemple, dans le cas de l'adaptation progressive de C. elegans à une température élevée T, on pourrait concevoir un mécanisme schématisé figure III - 1.

Ces éventuelles modifications du milieu pourraient être dues :

- soit à une évolution du complexe bactérien inféodé aux Nématodes ;
- soit à des changements de la fraction inerte résultant de variations intervenues dans sa fabrication ou sa conservation.

Les données expérimentales* ne confirment pas ces hypothèses.

A - INFLUENCE DU COMPLEXE BACTERIEN INFEODE AUX NEMATODES

Il n'a pas été possible de constater une différence significative entre les complexes bactériens provenant de deux lignées distinctes : l'une cultivée à 23° depuis 705 générations, l'autre maintenue à 23°5, sur le même milieu, depuis 458 générations** . On se trouve donc en présence des mêmes espèces bactériennes. Toutefois, il reste l'éventualité que certaines propriétés de ces espèces bactériennes soient modifiées.

* Les techniques de culture des Nématodes sont celles décrites dans la première partie de ce travail (BRUN 1966 b)

** Analyse effectuée par le Dr GUILLERMET, Chef du service de Microbiologie, à l'Institut Pasteur de Lyon, que je remercie bien vivement pour cette coopération.

Des tentatives de passage direct des Nématodes, de 18 à 23°5, ont été effectuées en utilisant le milieu 2,3 S additionné du complexe bactérien provenant des cultures effectuées à 23°5 : tous ces essais se sont soldés par des échecs. D'autre part, la lignée adaptée à 24°5 ne perd pas son accoutumance malgré un séjour d'une génération à 18° dans un milieu additionné du complexe bactérien provenant des cultures maintenues continuellement à cette dernière température.

Ainsi, même si le complexe bactérien caractéristique des élevages à 23°5 et 24°5 diffère de celui des cultures à 18°, cette différence ne permet pas aux Nématodes de supporter une température élevée. On ne peut envisager une influence déterminante de l'hypothétique transformation du milieu bactérien.

B - INFLUENCE D'EVENTUELLES MODIFICATIONS DE LA FRACTION INERTE

On peut supposer que la constitution du mélange nutritif évolue au cours de l'expérimentation (cf HANSEN et al. 1960) : soit d'une fabrication A à la suivante B par suite de variations incontrôlables dans la conservation des produits utilisés dans cette fabrication ou dans les conditions de préparation ; soit au cours de l'emploi d'un stock de même fabrication par suite de sa conservation au froid. Pour expliquer l'augmentation progressive de fécondité constatée, il faut alors envisager que ces transformations éventuelles exerceraient un effet favorable. La figure III - 2 présente, de façon schématique, deux de ces possibilités.

Pour avoir une idée du caractère plus ou moins valable de ces hypothèses, j'ai comparé les fécondités des premières et dernières générations obtenues sur un milieu de même fabrication (par exemple PG_A et DG_A) et obtenues sur des milieux consécutifs (par exemple DG_A et PG_B).

Le tableau III - 1 rassemble les observations effectuées, dans ces conditions, à 23 et 23°5. Elles imposent la conclusion suivante :

Que l'on considère l'action de la conservation du milieu (différence DG_A PG_A) ou l'action de la fabrication de ce milieu (différence PG_B - DG_A) on constate sensiblement une égale proportion d'influences favorables et d'influences défavorables. Il n'est donc pas possible d'admettre que le comportement de C. elegans soit lié, dans les conditions employées, aux caractéristiques de fabrication et de conservation du milieu nutritif.

FECONDITE

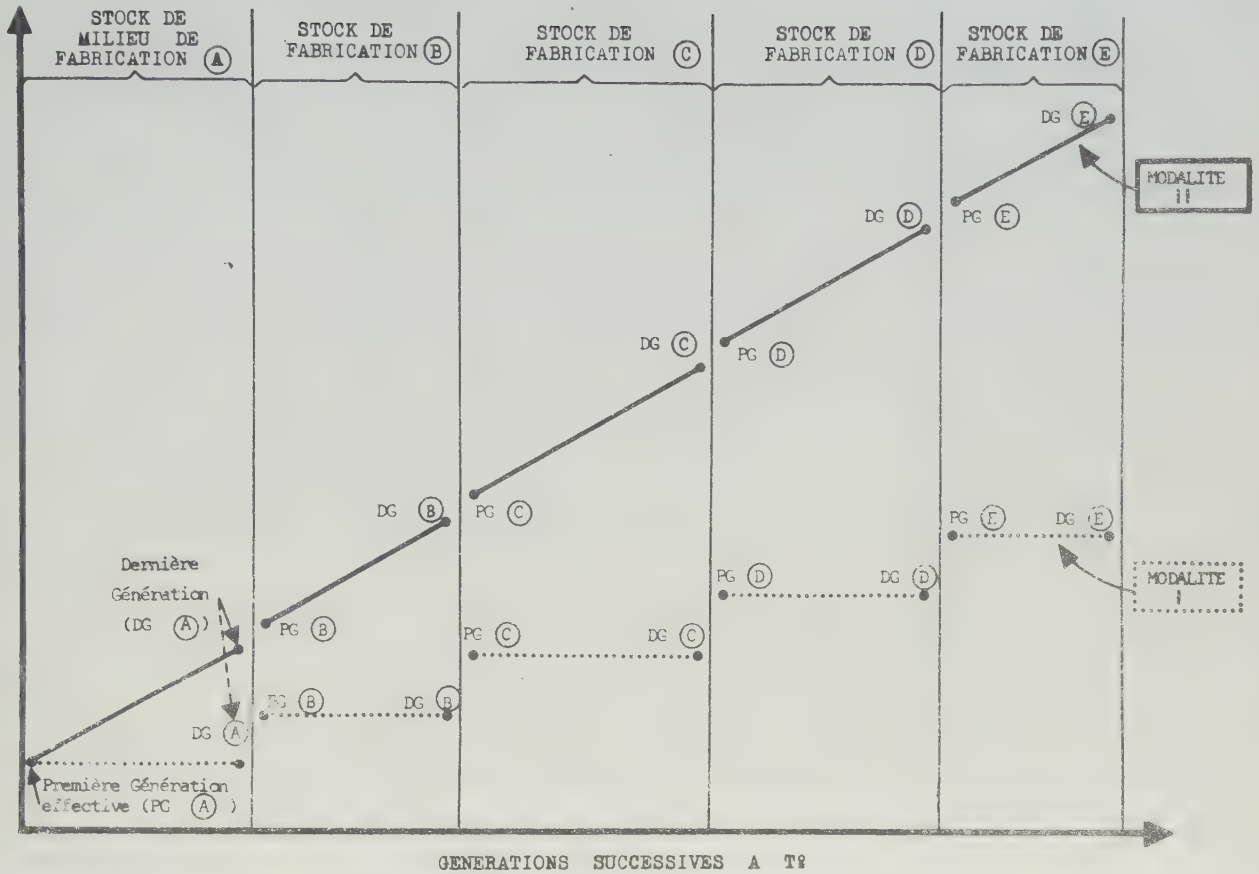


Figure III - 2 - Possibilités d'explication de l'augmentation progressive de fécondité de *C. elegans* - à chaque température élevée T supportée - par des transformations du milieu nutritif

MODALITE I : Modification du milieu due à des variations dans sa fabrication

MODALITE II : Modification du milieu due à la fois à sa fabrication et à sa conservation

DIFFERENCES $DG_A - PG_A$						DIFFERENCES $PG_B - DG_A$					
23°						23°					
GENERATIONS OBSERVEES	CAS		GENERATIONS OBSERVEES	CAS		GENERATIONS OBSERVEES	CAS		GENERATIONS OBSERVEES	CAS	
	POSITIFS	NEGATIFS		POSITIFS	NEGATIFS		POSITIFS	NEGATIFS		POSITIFS	NEGATIFS
G ₁₁ à 94	5	3	G ₁ à 36	1	3	G ₁₁ à 94	4	3	G ₁ à 36	3	1
G ₁₈₄ à 196		1	G ₅₄ à 96	2	2				G ₅₄ à 96	1	2
G ₂₄₆ à 287	1	4	G ₉₉ à 136	2		G ₂₄₆ à 287	3	1	G ₉₉ à 136		1
G ₃₀₅ à 332	2	1	G ₂₇₇ à 284	1		G ₃₀₅ à 332		2			
G ₅₂₆ à 541		1	G ₃₄₈ à 375		2	G ₅₂₆ à 541	1		G ₃₄₈ à 375		1
			G ₃₉₂ à 424	1	3				G ₃₉₂ à 424	1	2
			G ₄₃₂ à 506	10	5				G ₄₃₂ à 506	5	10
TOTAUX	8	10		17	15		8	6		10	17

ENSEMBLE DES COMPARAISONS A 23° ET 23°5

DIFFERENCES ETUDIEES	NOMBRE D'OBSERVATIONS	NOMBRE DE CAS POSITIFS	NOMBRE DE CAS NEGATIFS
$DG_A - PG_A$	50	25	25
$PG_B - DG_A$	41	18	23

TABEAU III - 1 - OBSERVATIONS EFFECTUEES A 23° ET 23°5 A PROPOS DES RELATIONS ENTRE :

- 1) La fécondité de la 1ère génération PG (prise comme base de comparaison) et la dernière DG pour chacun des milieux fabriqués successivement.
- 2) La fécondité de la dernière génération DG sur un milieu donné (A par exemple) et la première génération PG sur le milieu fabriqué immédiatement après (B par exemple).

(cf. figure III - 2, modalité II)

C - CONCLUSIONS

Comme je le montre par ailleurs (BRUN 1966 a), le milieu nutritif conditionne la fécondité d'une génération donnée de C. elegans (influence sur le phénotype). Cependant cette action du milieu ne semble pas se prolonger sur des générations successives. Aucune expérience, en effet, n'a permis de relever un lien entre l'augmentation de fécondité des Nématodes et une éventuelle modification du milieu de culture.

En définitive, il ne peut être question de concevoir la naissance et le développement des formes adaptées comme la résultante d'une addition de facteurs nutritionnels, de plus en plus favorables.

II - ROLE DE LA SELECTION

Certains caractères que présente l'acclimatation des Nématodes rappellent des résultats obtenus classiquement par les sélectionneurs. Citons en particulier :

- le palier séparant les phases I et III d'augmentation rapide de la fécondité au cours de l'élevage prolongé aux diverses températures élevées (BRUN 1966 b - fig. I - 5) ;

- l'allure en dents de scie des courbes traduisant les modifications de la fécondité des générations successives aux différentes températures d'adaptation (BRUN 1966 b - fig. I - 7).

Toutefois un examen un peu plus approfondi révèle assez vite les limites qu'on doit accorder à ces analogies. Alors que le résultat d'une sélection classique est obtenu en 20 ou 30 générations au maximum, l'accoutumance à une température élevée exige plusieurs centaines de générations. Le palier signalé ci-dessus ne se réalise qu'au bout de la 100ème génération d'adaptation des Nématodes alors que les sélectionneurs l'obtiennent classiquement au bout d'une dizaine de générations.

Ce qui suffit à montrer que si la sélection intervient dans la réalisation de l'adaptation, cela se passe ici de façon assez particulière. On peut en trouver une explication dans le fait que la sélection effectuée n'a jamais pu être extrême - quelle que soit la modalité expérimentale choisie (cf BRUN b, p. 11 et fig. I - 1). Ceci à cause de la nature même du critère utilisé pour définir l'adaptation. La fécondité ne permet, en effet, de caractériser le reproducteur qu'a posteriori, lors de l'examen de sa progéniture. La succession très rapide des générations m'a obligé, de façon constante, à choisir les géniteurs d'une génération avant que je sois complètement informé sur la fécondité des divers individus appartenant à la génération antécédente. Dans ces conditions, la sélection s'est pratiquement limitée, par la force même des choses, à éliminer de la lignée les individus stériles ou quasiment tels. Les observations postérieures montrèrent alors que les individus qui avaient été effectivement choisis comme géniteurs pouvaient appartenir aussi bien à une famille de fécondité supérieure à la moyenne de cette génération, qu'à une famille de fécondité inférieure.

Une analyse plus poussée, tenant compte de ces observations faites a posteriori, va me permettre d'examiner de plus près la place de la sélection dans mes résultats.

A - NON-SELECTION DE MUTANTS THERMOPHILES

L'utilisation d'une technique de cultures individuelles permet d'apprécier le comportement de tous les géniteurs employés et de relier entre eux les comportements des reproducteurs des générations successives. A tous les niveaux de l'adaptation, le pedigree complet d'un géniteur peut être connu. Près de 200.000 géniteurs ont ainsi été répertoriés. Aucun n'a manifesté brusquement et n'a conservé dans sa descendance une fécondité exceptionnelle pour les conditions thermiques supportées. Les quelques mutants décelés se sont tous révélés très peu féconds. Ils peuvent se répartir selon trois grands types dont les deux premiers cités se trouvent déjà décrits dans la littérature :

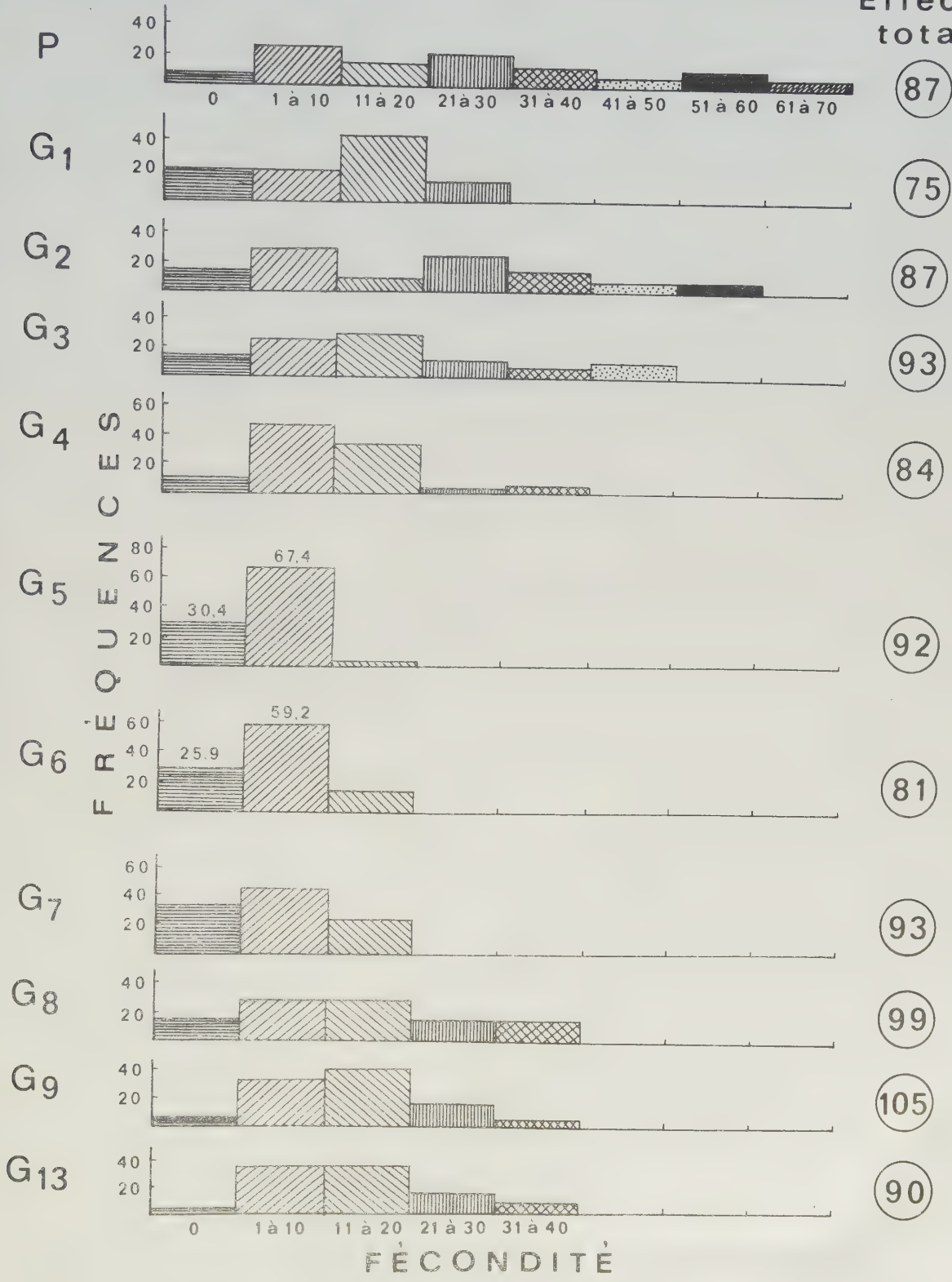
1° - le type tétraploïde (NIGON 1951). Il a été obtenu quelquefois lors des retours des animaux adaptés aux températures élevées à la température

Figure III - 3 - Distributions de fréquences de fécondité individuelle
à chacune des générations faisant suite au transfert des
Nématodes de 24 à 24°5

Les effectifs de chaque classe ont été représentés en pourcentage de l'effectif total des reproducteurs à chaque génération. Pour que cet effectif total soit suffisamment important, les résultats de cinq expériences menées en parallèle et au cours desquelles les animaux se sont comportés de façon très analogue ont été groupés.

Générations

Effectif
total



habituelle : 18°. Très peu féconds à cette température, ils ne résistent jamais à un transfert aux températures élevées.

2° - le type "nain". Il se réalise pratiquement dans toutes les conditions expérimentales. Il s'agit d'animaux dont la croissance est soit retardée (analogie avec la forme "Pygmée" décrite par NIGON et DOUGHERTY, 1954), soit bloquée. Ces animaux se révèlent soit stériles, soit substériles.

3° - le type "clair". Comme le précédent, il est "ubiquiste". Ces Nématodes ont un tube digestif et un appareil reproducteur très atrophiés et une cuticule beaucoup plus opaque que normalement. De ce fait, certains détails de leur organisation habituellement très contrastés, en particulier les grosses cellules de l'intestin, sont indistincts. Ils se sont toujours montrés stériles.

B - LA PHASE DE SENSIBILISATION EN DEBUT D'ADAPTATION

Ainsi que je l'ai décrit dans la première partie de cet exposé, à chacune des températures nouvellement supportées, l'adaptation des Nématodes s'amorce toujours par une période relativement brève de sensibilisation. Au cours de cette phase, qui ne dépasse guère les 10 premières générations (BRUN 1966 b, fig. I - 6 et 8), la fécondité moyenne décroît jusqu'à un minimum puis augmente progressivement. La considération de ce niveau critique est particulièrement intéressante car, ainsi que je l'ai déjà mentionné, c'est essentiellement par l'amélioration des possibilités reproductrices au-delà de ce seuil de survie que les Nématodes acclimatés aux températures élevées diffèrent des animaux de la souche maintenue continuellement à 18°. Or, on constate que ce ne sont pas seulement quelques individus qui sont en mesure de dépasser cette phase critique, mais au moins 50% de la population. La figure III - 3 en rend compte, par exemple, à propos d'une expérience de transfert de 24° à 24°5. Elle indique la distribution de fréquence de la fécondité individuelle lors des premières générations faisant suite au passage à 24°5. On constate que la variabilité décroît pour devenir minimum au moment de la phase maximale de sensibilisation et qu'à ce niveau, le maintien de la lignée n'est pas assuré par des animaux très féconds mais seulement par des individus dont la fertilité est faible. Les classes de fécondité élevées disparaissent du fait de cette sensibilisation pour réapparaître par la suite, lors de l'accoutumance et, semble-t-il, progressivement puisque seules

les classes 21 à 30 et 31 à 40 sont de nouveau représentées après 13 générations de culture à 24°5.

Tout paraît donc indiquer une variation continue et orientée de l'ensemble des animaux qui dépasse, en quelque sorte, les fluctuations du comportement individuel. L'adaptation ne semble pas devoir résulter d'une sélection d'animaux préadaptés puisque :

- a) la population de Nématodes n'est jamais dissociable en échantillons de fécondité nettement différente : l'un très fécond, l'autre peu fécond, par exemple
- b) les classes de haute fécondité ne sont pas représentées au niveau de la phase cruciale de l'adaptation : la phase de sensibilisation maximum.

Si l'on admettait l'hypothèse que le passage de la classe de fécondité (1 - 10) à la classe (11 - 20) résulte d'une seule étape de mutation, il faudrait concevoir au niveau de la 5ème génération un taux de mutation de l'ordre de 0,15. Ce taux, très supérieur aux chiffres habituellement considérés pour un gène, suffirait déjà à nous faire placer ce processus dans une catégorie très différente de la mutation génique au sens habituel de ce terme. Si l'on supposait que ce même passage résulte de plusieurs étapes de mutation, il faudrait leur accorder une fréquence d'apparition plus élevée encore.

C - INEFFICACITE D'UNE ALTERNANCE REGULIERE DES TEMPERATURES D'ELEVAGE

Les partisans de la préadaptation soutiennent souvent leur position en arguant que, par exemple, la résistance aux poisons croît beaucoup plus vite lorsque l'on soumet les organismes à des doses alternativement fortes et faible que lorsqu'on prolonge l'action d'une dose donnée. Selon eux, cette alternance favoriserait la sélection des plus aptes.

Dans le cas des Nématodes, on peut décrire une expérience de ce type tentée à 23°, au début de la phase II d'adaptation. A partir de la 114ème génération l'élevage des animaux a été réalisé pendant 6 générations successives alternativement à 23 et 24°. Ainsi que le montre le tableau III - 2 :

La comparaison des générations successives issues de 23° et se reproduisant à 24° (G₁₁₄ - 116 - 118) indique une diminution progressive et significative

GENERATIONS SUCCESSESIVES	G ₁₁₄ (23) → (24)	G ₁₁₅ (24) → (23)	G ₁₁₆ (23) → (24)	G ₁₁₇ (24) → (23)	G ₁₁₈ (23) → (24)	G ₁₁₉ (24) → (24)
Nombre d' animaux	17	15	18	12	12	23
Pourcentage de stériles	0	6,7	33,3	8,33	83,3	78,3
Fécondité moyenne	11,1	41,9	4,3	32,2	0,2	0,3
Fécondité maximum	26	84	13	73	1	1

TABLEAU III - 2 - EFFETS SUR LES FECONDITES MOYENNES ET MAXIMA AINSI QUE SUR LE POURCENTAGE D'ANIMAUX STERILES D'UNE ALTERNANCE REGULIERE DE LA TEMPERATURE D'ELEVAGE, de 23° à 24°

La température de prélèvement figure, entre parenthèses, avant l'indicatif de la génération étudiée ; après celui-ci est inscrite la température à laquelle s'effectue la ponte

(Milieu 2,3 S - Modalité expérimentale I)

des fécondités moyenne et maximum et une augmentation corrélative du pourcentage de stériles ;

- b) la comparaison des deux générations issues de 24° et se reproduisant à 23° (G₁₁₅ - 117) révèle un résultat analogue.

Ainsi, en alternant régulièrement la température d'élevage des Nématodes, leur fécondité décroît. L'existence d'individus plus adaptés à la chaleur ne se trouve donc pas confirmée par cette technique.

D - RELATIONS ENTRE LES VARIATIONS DE LA PRESSION DE SELECTION ET LES MODIFICATIONS DE FECONDITE DES GENERATIONS SUCCESSIVES

A 23°5, entre les générations 432 et 493 - c'est-à-dire pendant 61 générations consécutives - la fécondité des animaux a été calculée sans interruption, hormi deux exceptions. Dans l'intervalle, la fertilité augmente d'environ 25% (fécondité moyenne des 10 premières générations étudiées : 26,9 ± 4,6 ; fécondité moyenne des 10 dernières générations : 36,7 ± 3,7).

Comme cet accroissement de fécondité se réalise de façon irrégulière, selon un processus analogue à celui décrit figure I - 7 - c'est-à-dire avec des chutes fréquentes et nettement marquées dans la reproduction - on serait tenté de penser que des inégalités de sélection pourraient en être responsables.

Afin de vérifier cette hypothèse, j'ai examiné les relations susceptibles d'exister entre fécondité et pression de sélection, en calculant un indice de pression de sélection S de la façon suivante :

Pour une génération a

$$S_a = \frac{\Delta_{a-1}}{n} \quad (1)$$

formule dans laquelle :

- n est le nombre d'individus de la génération a-1 à l'origine de la génération a dont on étudie la fécondité (cf modalité expérimentale fig. I - 1 a)
- Δ_{a-1} est la différence de sélection au niveau de la génération a-1. Elle

correspond à la somme algébrique des écarts entre la fécondité de chaque géniteur et la fécondité moyenne de la population à laquelle il appartient.

Si on désigne la fécondité des géniteurs par $P_1, P_2, \dots, P_n$ et la fécondité moyenne des populations respectives dont est extrait chacun d'eux par $\bar{P}_1, \bar{P}_2, \dots, \bar{P}_n$, on a :

$$\Delta_{a-1} = \sum_{i=1}^n (P_i - \bar{P}_i) \quad (2)$$

Les résultats de cette étude sont les suivants :

- a) sauf 3 exceptions, la sélection au niveau de chacune des 56 générations considérées a été positive ;
- b) il n'y a aucune corrélation entre l'intensité de sélection et la fécondité de *C. elegans*. La figure III - 4 se révèle, à ce sujet, fort démonstrative,
- c) il n'y a pas de liaison évidente entre la pression de sélection exercée et la différence de fécondité constatée entre génération-fille et génération parentale. C'est ce que montre la figure III - 5 : dans 27 cas, la sélection positive entraîne une augmentation de fécondité ; dans 26 cas, elle aboutit à une diminution de fécondité. On notera cependant qu'une sélection forte (supérieure à + 10) conduit à une fécondité accrue dans 15 cas sur 26 ; une sélection plus faible donne seulement 12 cas de fécondité plus forte sur 30.

E - CORRELATION ENTRE FECONDITE DES PARENTS ET FECONDITE DES ENFANTS

On peut admettre que les variations de fécondité constatées résultent de ce que l'on observe, au niveau d'une génération $n+1$ par exemple, une fraction héritée d'une différence volontairement créée, par sélection, dans la génération n . Cette comparaison, en fait, n'est pas simple. Il est classique actuellement de l'effectuer en employant la méthode préconisée par F.W. ROBERTSON (19) d'hérédité réalisée. Celle-ci est définie par le rapport suivant :

$$h^2 = \frac{R}{\Delta} \quad (3)$$

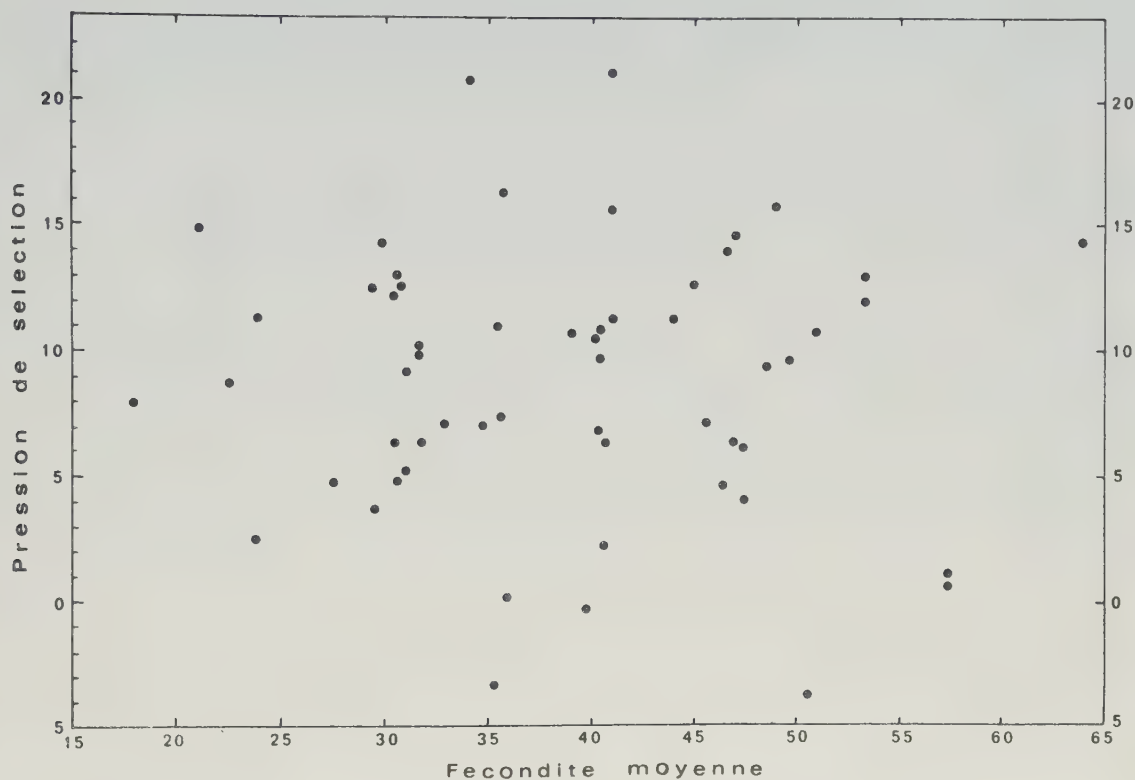


Figure III - 4 - Relations entre la fécondité moyenne des générations
432 à 493 et la pression de sélection exercée

(Milieu 2,3 S - Modalité expérimentale I -
La pression de sélection a été calculée d'après la formule (1) p. 65)

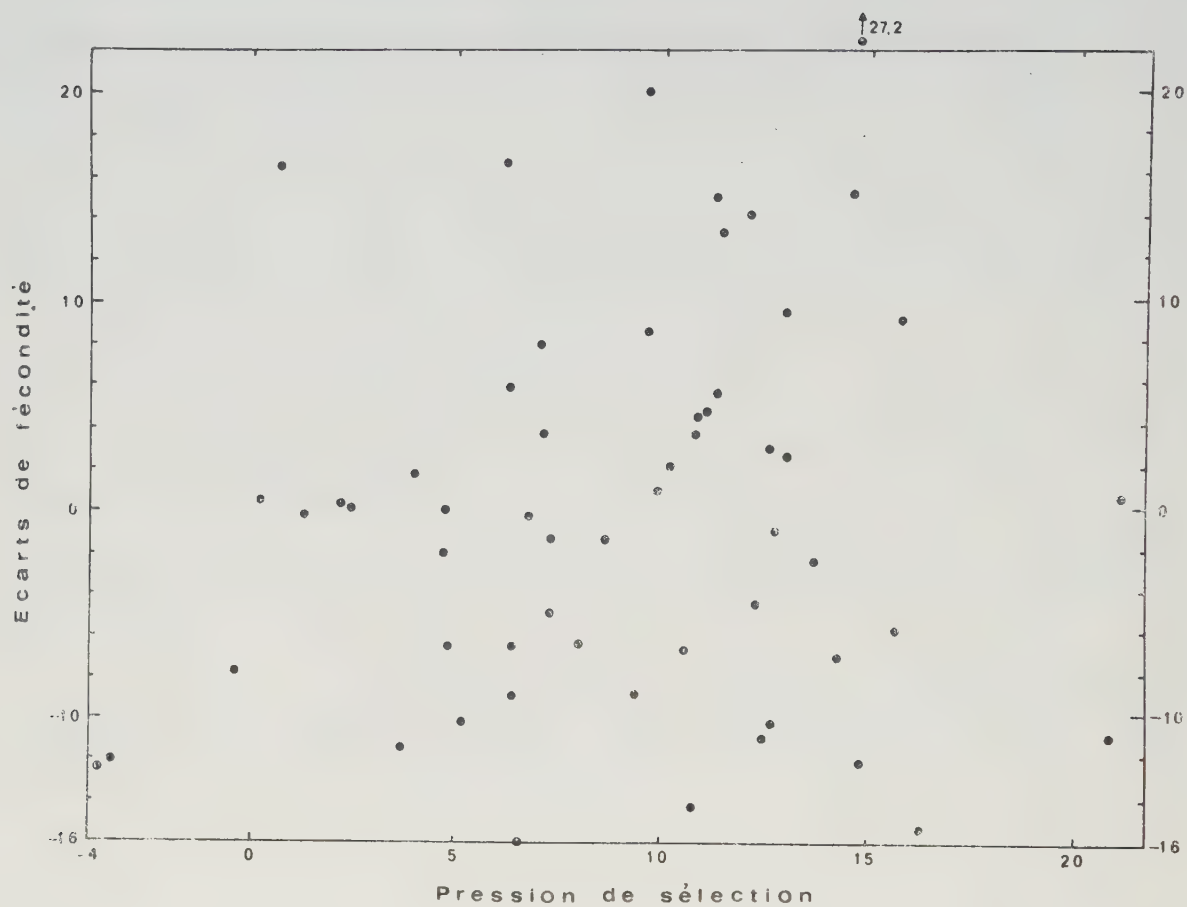


Figure III - 5 - Relations entre la pression de sélection exercée et la différence de fécondité moyenne constatée entre génération fille et génération parentale

dans lequel : h^2 = hérabilité réalisée

Δ = moyenne de la différence de sélection

R = moyenne de la réponse par génération

Ces deux derniers paramètres Δ et R ont été calculés de façon différente selon les objectifs que je me suis proposé :

α) Pour estimer la part de variation qui a été réellement héritée d'une génération à la suivante

- Δ - Au niveau de la génération parentale a , la différence de sélection Δ_a correspond alors à la somme algébrique des écarts entre la fécondité de chacun des géniteurs et la fécondité moyenne de la population à laquelle ils appartiennent. Δ_a est donc calculé par la formule (2) définie dans le chapitre précédent.

- R - La réponse R à la différence de sélection correspond à la somme algébrique des différences de fécondité moyenne entre chacune des populations de descendants $\bar{F}_1, \bar{F}_2, \dots, \bar{F}_n$ et chacune des populations parentales $\bar{P}_1, \bar{P}_2, \dots, \bar{P}_n$

$$R_a = \sum_{i=1}^n (\bar{F}_i - \bar{P}_i) \quad (4)$$

Pour accroître l'information fournie par une telle méthode, j'ai distingué les deux cas de la sélection positive ($P - \bar{P} > 0$) et de la sélection négative ($P - \bar{P} < 0$).

β) Pour estimer la part de variation qui est héritée sur l'ensemble des générations d'une expérience donnée

Soit une expérience s'étendant sur p générations. Les deux paramètres Δ et R , permettant de définir l'hérabilité réalisée h^2 , sont alors obtenus de la façon suivante :

- Δ - La différence de sélection sera la somme algébrique des différences de sélection (3) mesurées pour les diverses générations parentales considérées, c'est-à-dire :

$$\Delta_T = \Delta_a + \Delta_b + \dots + \Delta_{p-1} \quad (5)$$

- R - La réponse à la différence de sélection sera donc la somme algébrique des réponses aux différences de sélection (4) constatées au niveau de chacune des générations, c'est-à-dire :

$$R_T = R_a + R_b + \dots + R_p \quad (6)$$

Dans ce cas, l'estimation de l'héritabilité réalisée se rapproche de la définition qu'en fournit FALCONER (1960) : l'héritabilité réalisée correspond à la régression de la réponse totale à la sélection, pour des générations successives, sur les différences de sélection cumulées.

Ces deux modalités d'appréciation ont été considérées pour caractériser les conséquences de la sélection artificielle effectuée :

- d'une part lors du transfert des Nématodes à température plus élevée ;
- d'autre part lors d'une culture de longue durée à température élevée.

1) CONSEQUENCES DE LA SELECTION LORS DU TRANSFERT A TEMPERATURE PLUS ELEVEE

REMARQUE PRELIMINAIRE

Subissant un transfert de température, les Nématodes ne sont pas dans des conditions d'élevage stables. Dans ces conditions, la variabilité due à l'environnement risque d'être si grande qu'elle en masquera l'effet de la variabilité génétique. En outre, il s'établit des relations de parenté entre générations successives et le système d'appareillement varie d'une génération à l'autre. Il en découle que le coefficient h^2 calculé ne saurait correspondre à l'héritabilité telle qu'elle est théoriquement définie. Il peut cependant être utilisé comme indice de travail pour apprécier l'influence éventuelle d'une sélection positive

GENERATIONS A 23°5 C ETUDIEES (FECONDITIONES MOYENNES)	h ² GLOBALE		h ² POUR SELECTION POSITIVE		h ² POUR SELECTION NEGATIVE	
	h ²	Pression de sélection	h ²	Nombre de cas	h ²	Nombre de cas
$F_1 \rightarrow F_2$ (7,9) (7,7)	- 0,69	+ 6,76	- 0,53	74	+ 2,30	12
$F_2 \rightarrow F_3$ (7,7) (5,4)	- 0,46	+ 5,97	- 0,31	72	+ 1,67	19
$F_3 \rightarrow F_4$ (5,4) (4,2)	- 0,81	+ 6,65	- 0,76	46	+ 3,08	2
$F_4 \rightarrow F_5$ (4,2) (1,9)	- 0,72	+ 4,03	- 0,42	36	+ 3,26	9
$F_5 \rightarrow F_6$ (1,9) (0,8)	- 1,12	+ 3,95	- 1,05	39	+ 3,03	8
$F_6 \rightarrow F_7$ (0,8) (0)	- 1,58	+ 3,03	- 1,01	29	+ 3,05	9

TABLEAU III - 3 : VALEURS PRISES PAR L'INDICE DEFINI COMME HERITABILITE REALISEE ET LA PRESSION DE SELECTION AU COURS DES GENERATIONS SUCCESSIVES PENDANT LESQUELLES LES NEMATODES PROVENANT DIRECTEMENT DE 18°, PEUVENT SE MAINTENIR A LA TEMPERATURE DE 23°5

(Milieu 2,3 S ; ensemble des résultats de 11 expériences de transfert à 23°5 effectués à partir de la 124^eème génération à 18°. Pour chaque expérience, 48 géniteurs étaient utilisés, répartis en 8 familles de 6 animaux-frères ; modalité expérimentale I).

On définit comme sélection positive, le cas où le géniteur employé a une fécondité supérieure à la fécondité moyenne de la génération à laquelle il appartient.

GENERATIONS PRELEVEES A 23°5 C	h ² GLOBALE		h ² POUR SELECTION POSITIVE		h ² POUR SELECTION NEGATIVE	
	Pression de sélection globale		Nombre de cas		Nombre de cas	
	h ²		h ²		h ²	
93ème	- 0,64	+ 6,48	- 0,64	26		0
481ème	- 0,74	+ 8,72	- 0,12	12	+ 1,93	4

TABLEAU III - 4 : VALEURS DE L'INDICE DEFINI COMME HERITABILITE REALISEE ET DE LA PRESSION DE SELECTION POUR L'ENSEMBLE DES 5 PREMIERES GENERATIONS A 24° DE NEMATODES PRELEVES AU NIVEAU DES 93ème ET 481ème GENERATIONS A 23°5

(Milieu 2,3 S ; modalité expérimentale I)

- Le transfert 23°5 → 24° effectué avec la 93ème génération à 23°5 échoue
- Le transfert 23°5 → 24° effectué avec la 481ème génération à 23°5 réussit

ou d'une sélection négative.

Le tableau III - 3 fournit les valeurs de l'héritabilité réalisée et de la pression de sélection d'une génération à la suivante, pendant tout le temps que les Nématodes peuvent subsister à 23°5 lorsqu'ils sont transférés directement à cette température à partir de la température initiale de 18°. En ce qui concerne l'héritabilité, ce tableau indique, outre l'héritabilité globale mentionnée ci-dessus, les valeurs prises par h^2 d'une part, pour l'ensemble des cas de sélection positive, d'autre part pour l'ensemble des cas de sélection négative.

On constate que :

- a) dans le cas d'une sélection positive, l'indice défini comme héritabilité réalisée est constamment négatif. En outre, il semble qu'il devienne de plus en plus négatif dans les deux dernières générations. Ainsi, après transfert de température, le choix de géniteurs plus féconds que la moyenne de la population à laquelle ils appartiennent n'empêche pas la fécondité de diminuer de plus en plus au cours des générations successives ;
- b) dans le cas d'une sélection négative, l'indice h^2 prend des valeurs positives de plus en plus grandes. Donc la réponse à la sélection varie dans le même sens que la sélection : les géniteurs peu féconds ont donc une descendance de moins en moins féconde.

Il en découle que l'on doit considérer la sélection effectuée comme incapable de contrecarrer un mécanisme prédominant qui nuit à la reproduction des animaux. Il est intéressant de constater que l'on arrive aux mêmes conclusions lorsqu'on considère le comportement des Nématodes lors des passages d'une température élevée à une autre encore plus forte (tableau III - 4).

2) CONSEQUENCES DE LA SELECTION LORS D'UN LONG ELEVAGE A TEMPERATURE ELEVEE

REMARQUE PRELIMINAIRE

Puisque les conditions de milieu sont stables et bien qu'il existe toujours des liens de parenté entre les géniteurs, le coefficient h^2 utilisé précédemment comme indice de travail se rapproche ici de la définition théorique de l'héritabilité.

bilité réalisée.

Le tableau III - 5 rassemble les valeurs obtenues en considérant le comportement des Nématodes à 23 et à 23°5, lors de la phase III d'adaptation, c'est-à-dire à un niveau où l'augmentation de fécondité est encore importante (cf. fig. I - 5).

Les résultats obtenus peuvent s'interpréter ainsi :

- a) lorsqu'on pratique une sélection positive, les valeurs de l'héritabilité réalisée trouvées pour les différentes expériences ne sont pas significativement différentes de zéro. Ceci tend à prouver que le choix d'animaux féconds ne se traduit pas par une augmentation de la fécondité des descendants. Si la sélection exerce un effet, celui-ci doit donc être masqué par l'influence prédominante d'un autre facteur.
- b) si on pratique une sélection négative, on constate que la réponse à la sélection est elle-même négative, ce qui explique que l'héritabilité soit positive dans ce cas. On note que pour les expériences portant sur un effectif assez faible (21 - 31), la valeur de l'héritabilité obtenue n'est pas significativement différente de zéro. Par contre, pour l'expérience 34, l'information doit être considérée comme plus précise : on observe alors une héritabilité nettement positive. Ainsi, dans le cas d'une sélection négative, moins les individus sélectionnés sont féconds, moins leur descendance est féconde.

F - DISCUSSION

L'ensemble des considérations précédentes permet de répondre aux deux questions abordées dans ce chapitre : y a-t-il eu sélection ? si oui, quel effet a exercé cette sélection ?

La première de ces questions doit incontestablement recevoir une réponse positive. En effet, dans toutes mes expériences, les animaux stériles sont forcément éliminés. En outre, dans la mesure du possible - car cela ne peut être systématique - des reproducteurs relativement féconds ont été choisis. Cela se

Température	n° d'expériences	Généralions étudiées	h^2 globale	h ² POUR SELECTION POSITIVE		h ² POUR SELECTION NEGATIVE	
				h^2	Nombre de cas	h^2	Nombre de cas
23°	{	451 à 455	- 2,76	- 0,18	12	+ 0,12	12
23°	{	542 à 551	- 0,02	+ 0,09	30	+ 0,03	16
23°5	{	392 à 401	- 0,34	+ 0,16	52	+ 0,44	24
23°5	{	432 à 493	- 0,23	- 0,02	314	+ 0,73	105

TABIEAU III - 5 : VALEURS GLOBALES DE L'HERITABILITE REALISEE MESUREES LORS DE 2 PERIODES D'ACCOUSTOMANCE A 23° D'UNE PART, 23°5 D'AUTRE PART, LORS DE LA PHASE III D'ADAPTATION

(Milieu 2,3 S ; modalité expérimentale I)

traduit, en particulier, par le fait que la pression de sélection, sans être considérable, est très généralement positive.

Quant à l'effet exercé par cette sélection, il est nécessaire d'adopter une position nuancée.

D'une part, une sélection négative conduit, de toute évidence, à la stérilité. Mais, d'autre part, une sélection positive est loin de suffire à créer les conditions d'une fécondité accrue. Cette asymétrie dans les conséquences de la sélection peut être constatée dans les premières générations qui suivent un transfert à température plus élevée comme dans les générations suivantes. Cependant l'effet est beaucoup plus net dans le premier cas. Ainsi, à mesure que l'acclimatation progresse, l'effet défavorable d'une sélection négative diminue d'intensité.

Le caractère dyssymétrique de cette influence exercée par la sélection peut trouver une explication si l'on admet que les éléments transmissibles, responsables de la fécondité, se décomposent en deux ensembles obéissant à des règles de transmission différentes :

1 - des facteurs de stérilité S , de signe négatif quant à leur influence sur la fécondité, se transmettant de façon particulièrement efficace ;

2 - des facteurs d'acclimatation A , de signe positif ou négatif, selon les cas, se transmettant avec un indice d'hérédité relativement faible.

Dans le cadre de cette hypothèse, les facteurs de stérilité doivent être présents dans tous les élevages pratiqués à température élevée. En revanche, ces éléments S n'apparaîtraient pas lorsque les élevages sont pratiqués à 18° , sauf dans l'expérience comportant un double passage entre $23^{\circ}5$ et 18° et où l'on constate une influence défavorable exercée par le vieillissement des parents (tableau II - 14). Cette dernière observation conduit à émettre l'hypothèse que le vieillissement des parents apporte aux descendants un élément de stérilité supplémentaire dont l'influence est décelée lorsqu'ils sont portés à température élevée. En définitive, les facteurs de stérilité pourraient tirer leur origine de processus physiologiques divers. Le caractère cumulatif de leur activité de génération en génération, leur transmissibilité élevées, expliqueraient aisément le caractère efficace d'une sélection négative.

La sélection positive, au contraire, repose sur le choix de géniteurs dont les déterminations génétiques comportent, entre les deux ensembles de fac-

teurs S et A responsables de la fécondité, une dominante positive A . Mais, entre la détermination génétique des parents et celle des descendants, viennent s'insérer les processus dont on a vu précédemment que certains d'entre eux inclinent vers la stérilité avec une efficacité considérable. Dans ces conditions, la moyenne des descendants montrera une fécondité relativement faible, aboutissant, pour ce caractère, à un indice d'héritabilité proche de zéro.

Cependant, dans ces conditions, comment expliquer que l'accoutumance finisse par l'emporter ? Trois hypothèses peuvent être considérées :

- a) par le jeu de la sélection, on élimine d'abord les individus chez lesquels les processus de stérilisation sont les plus puissants. On provoque ainsi une survie de la lignée qui autorise le développement progressif de processus antagonistes.
- b) l'avènement d'une régulation physiologique qui s'installe progressivement vient ralentir le développement des processus de stérilisation. Cette régulation se traduit par un allongement de la période féconde.
- c) un mécanisme régulateur - peut-être identique au précédent - vient limiter l'héritabilité des processus de stérilisation. Cet effet se traduit par une efficacité diminuée de la sélection négative lorsqu'elle porte sur des animaux convenablement acclimatés.

Si l'on admet que les deux derniers processus s'installent lentement, on expliquera, à la fois, que la sélection positive est peu efficace et que l'acclimatation exige une sélection poursuivie sur de nombreuses générations.

Il n'échappera à personne que ces spéculations doivent être considérées comme des hypothèses de travail : elles paraissent, en effet, ouvrir la voie à de nouvelles investigations. D'autre part, nous n'avons guère examiné jusqu'à présent, sur quels supports cellulaires peut reposer la transmission des processus dont nous avons été conduits à supposer l'existence. C'est à l'examen de cette question que va être consacrée la discussion générale.

DISCUSSION GÉNÉRALE

L'adaptation de Caenorhabditis elegans aux températures élevées se présente comme la résultante d'effets cumulatifs. Elle se traduit non seulement par l'augmentation graduelle et lente des capacités de multiplication du Nématode mais aussi par une stabilisation progressive de la transformation adaptative. Cependant cette stabilité n'est jamais complète : l'accoutumance tend à disparaître dans diverses circonstances, en particulier lorsque les animaux sont maintenus très longtemps à une température inférieure ou lorsqu'on utilise des reproducteurs âgés.

J'essaierai maintenant de répondre à deux questions-clés :

1 - quels sont les types de facteurs transmissibles sur lesquels peut reposer la stabilité de l'adaptation ?

2 - par quel processus une souche non adaptée peut-elle devenir adaptée ?

I - FACTEURS TRANSMISSIBLES RESPONSABLES DE LA STABILITÉ DE L'ADAPTATION

Les expériences réalisées ont permis de mettre en évidence les trois caractéristiques suivantes :

a) l'inadaptation complète d'un individu - exprimée par la stérilité totale - n'est observée, après une seule génération, que si cet animal est soumis à un très important incrément thermique. Si celui-ci est un peu plus faible, l'inadaptation va croissant au cours des générations successives jusqu'à atteindre l'inadaptation totale. Mais si l'incrément thermique est encore un peu moindre,

à l'inadaptation initiale pourra succéder, au cours des générations ultérieures, le début d'une phase d'accoutumance.

- b) lorsqu'un élevage a atteint la phase d'adaptation, la stabilité de cette acquisition, telle qu'elle se manifeste après retour à des températures moins élevées et avec des cultures utilisant de jeunes géniteurs, s'avère d'autant plus grande que le degré d'acclimatation atteint (exprimé par la fécondité) a été plus important.
- c) la stabilité des transformations ainsi déterminées peut finalement être considérable puisqu'une lignée adaptée pendant 453 générations à 23°5 puis ramenée à la température de base (18°) conserve, à cette température, pendant plus de 180 générations, une fécondité significativement différente de celle de la souche maintenue constamment à 18°. Cependant l'acclimatation à la température de 23°5 proprement dite commence à décroître de façon sensible 17 générations environ après les débuts du transfert à 18°.

Pour rendre compte de ces faits, trois catégories d'hypothèses peuvent être envisagées.

A - HYPOTHESE D'UNE DETERMINATION EXCLUSIVEMENT GENIQUE

S'il était établi que l'adaptation obtenue est définitivement acquise et si l'on s'en tenait uniquement à cette caractéristique, l'hypothèse génique s'imposerait : une transformation du génotype est en effet la garantie d'une transformation permanente. Dans cette perspective, les résultats de FATT et DOUGHERTY (1963) constituent peut-être un indice intéressant. Ces auteurs, après avoir constaté que la souche de Caenorhabditis elegans provenant de Bristol (Grande-Bretagne) est naturellement plus résistante que ma propre souche récoltée à Bergerac, ont observé que la résistance élevée de la forme Bristol pourrait être due, en particulier, à la présence d'un gène dominant : la thermorésistance pourrait donc correspondre au fonctionnement d'un petit nombre de gènes.

Cependant le caractère très instable des transformations lorsqu'elles sont obtenues après un petit nombre de générations reste inexplicable dans une hypothèse aussi simple. En outre, il semble bien que le degré de stabilité que j'ai

observé dépende toujours de conditions critiques (âge des reproducteurs, par exemple). Si bien que l'hypothèse génique paraît à exclure dans le cas qui nous intéresse, au moins en tant qu'explication unique.

B - HYPOTHESE D'UN DETERMINISME EXTRA-CHROMOSOMIQUE

Dans certains cas, la résistance des Insectes vis-à-vis du D.D.T. se transmet par voie matrocline, ce qui constituerait l'indice d'une hérédité cytoplasmique (AFIFI et KNUSTON 1956 ; COCHRAN et al. 1952-1962 ; FAY, BAKER et GRAINGER 1949 ; GRAYSON 1957 ; JOHNSTON, BOGART et LINDQUIST 1954 ; PIMENTEL, SCHWARDT et DEWEY 1954 ; RASMUSSEN 1952). Une hypothèse du même ordre est concevable dans le cas qui nous intéresse. En fait, trois modalités peuvent être invoquées :

- a) intervention d'une structure particulière éventuellement parasite et transmise selon un mécanisme non chromosomique ;
- b) mise en place d'états cytoplasmiques nouveaux (conçus soit comme des "équilibres de flux" selon DELBRUCK 1949, soit d'après les schémas d'HINSHELWOOD 1952-1960, ou de POLLOCK 1958) ;
- c) transmission directe de métabolites d'une génération à l'autre par le canal des gamètes, principalement l'ovocyte. C'est ainsi que la cynurenine peut être transmise d'une mère pigmentée d'Ephestia kuhniella à ses descendants dont certains sont incapables de former cette substance. (CASPARI 1949)

On doit constater que des travaux de plus en plus nombreux attribuent - chez les organismes inférieurs ainsi que chez les végétaux (cf. JINKS 1964) - à des particules cytoplasmiques autoreproductibles et à leurs modifications quantitatives ou qualitatives, la responsabilité de caractéristiques morphologiques ou biologiques singulières et persistantes : chez les Paramécies (caractère "killer", SONNEBORN 1943 ; type d'appariement, SONNEBORN 1951 ; caractères antigéniques, BEALE 1954 ; adaptation au chlorure de calcium, GENERMONT 1963), les Flagellés (Euglènes blanches, BRAWERMAN et CHARGAFF, 1960 ; résistance de Chlamydomonas aux toxiques, SAGER 1965), les Levures (formes "petites", EPHRUSSI et al., 1955 ; résistance de S. ellipsoideus aux ions cuivriques, ANTOINE, 1964), les Champignons

(phénomène de sénescence et de barrage chez Podospora, RIZET et al. 1958 ; caractère "poky" de Neurospora, MITCHELL et al., 1952 - PITTENGER 1956 ; variants red, purple, alba, minute, brown et compact d'Aspergillus nidulans, ARLETT et al. 1962 , GRINDLE 1963 , MAHONY et WILKIE 1962 ; adaptation d'Aspergillus glaucus à divers toxiques, BRIAULT 1956 , JINKS 1959 a ; forme à sporulation réduite d'Aspergillus glaucus, JINKS 1959 b).

Il apparaît cependant que, dans son économie générale, l'hypothèse d'états cytoplasmiques stables ne diffère pas essentiellement de l'hypothèse particulière : il est clair, en effet, qu'une particule autoreproductible constitue, elle-même, le support et le résultat d'un ensemble d'interactions que, dans leur totalité, on pourrait qualifier comme des états cytoplasmiques. Par ailleurs, on peut fort bien imaginer que ces états se maintiennent à travers les processus de différenciation cellulaire d'un Métazoaire de façon "quasi génique" comme on a pu le constater à propos de certains phénomènes d'induction enzymatique chez les Bactéries (cf. NOVICK et Mc COY 1958).

C - HYPOTHESES D'INTERACTIONS ENTRE FACTEURS NUCLEAIRES ET CYTOPLASMIQUES

A ce niveau, la diversité des hypothèses possibles devient très grande. Je me limiterai ici au rappel de certaines interprétations qui pourraient servir de modèle :

1 - HINSHELWOOD et son école (DEAN et HINSHELWOOD 1964 a et b) effectuent, chez les Bactéries, des observations qu'ils interprètent en faveur d'une induction, par le milieu, de modifications qui finiraient par acquérir une très grande stabilité. Celle-ci pourrait, d'après ces auteurs, résulter d'une altération du code génétique consécutive à une transformation du cytoplasme.

2 - Chez l'Ascomycète Podospora anserina, RIZET et al. (1958), MARCOU (1961) ont admis que la sénescence et le phénomène de barrage sont dus à l'apparition de particules cytoplasmiques. Celles-ci pourraient dériver de "préparticules" intégrées au génôme à la façon d'un provirus.

Il en serait de même en ce qui concerne la résistance aux toxiques chez une Bactérie d'après WATANABE et FUKASOWA (1962). Inversement, les travaux de L'HERITIER et ses collaborateurs (L'HERITIER 1962) ont montré que le germe

des *Drosophiles* sensibles héréditairement au CO² peut être affecté par un virus provenant du soma, avec apport de caractères héréditaires.

3 - Chez *Drosophila melanogaster*, l'effet de masse produit certaines modifications du nombre d'ovarioles des descendants. Si cet effet de masse ne s'exerce que sur une seule génération, le mécanisme mis en jeu est un effet prolongé. Mais si l'action se poursuit sur de nombreuses générations, le génôme est modifié. Selon DAVID (1962) "ou bien le parallélisme est accidentel et les deux processus sont sans liens réels. Ou bien l'effet prolongé peut aider les remaniements géniques".

II - PAR QUELS PROCESSUS UNE SOUCHE NON ADAPTEE PEUT-ELLE DEVENIR ADAPTEE ?

Nous venons de rappeler un certain nombre d'exemples susceptibles de fournir des modèles de systèmes de transmission éventuellement applicables au cas qui nous intéresse. Dans quelle mesure l'examen du processus de transmission permettra-t-il de choisir entre ces modèles ? De ce point de vue, deux catégories d'hypothèses peuvent être considérées sous les titres généraux respectifs de préadaptation ou de mutation.

A - HYPOTHESE D'UNE PREADAPTATION AU NIVEAU DES STRUCTURES INTRACELLULAIRES

L'explication la plus couramment avancée consiste à attribuer aux facteurs externes le rôle d'agent sélectif triant, dans une population hétérogène au départ, les individus porteurs de facteurs transmissibles à effet favorable, qu'ils soient géniques ou extra-chromosomiques.

Lorsqu'elle joue sur des reproducteurs à sexes séparés, la sélection permet d'éliminer certaines informations génétiques et d'en valoriser d'autres. C'est sur les combinaisons d'information qui résultent de la multiplication sexuée que le mécanisme sélectif peut exercer son action avec la plus grande puissance, pour permettre, finalement, l'apparition de formes et de propriétés dont on ne saurait

cependant affirmer, sans un certain abus de langage, qu'elles étaient réellement contenues dans la population initiale. A cet égard, la sélection est réellement créatrice. Mais elle l'est seulement au-delà du niveau des unités génétiques. Au sein de ces unités elles-mêmes, les structures élémentaires se répètent selon des formes déjà présentes au début de l'expérience. L'effet observé résulte seulement de leur redistribution et de l'élimination de certaines d'entre elles. Ainsi, ce mécanisme peut, sans doute, jouer un très grand rôle dans de nombreux types de processus évolutifs et même expliquer complètement une partie d'entre eux. Toutefois, dans le cas qui nous intéresse, ce système apparaît partiellement inapplicable. En effet, l'hermaphrodisme autogame de C. elegans nous met en présence d'une forme de multiplication dans laquelle aucun croisement n'intervient entre des individus différents.

Il n'est pas certain que l'on doive, pour autant, renoncer à envisager l'existence de structures préadaptatives au sein de lignées autofécondes. Toutefois, à supposer qu'il existe, au départ, une hétérogénéité génétique, celle-ci ne semble pas pouvoir se trouver au sein du matériel génique. En effet, l'autofécondation - qu'on peut considérer comme la forme d'inbreeding la plus stricte - instaure fatalement l'homozygotie. D'après WRIGHT (1933), le pourcentage d'homozygotes dans une population peut théoriquement passer, par autofécondation, de 50 à 100% en 6 générations. Même si l'on admet que l'évolution vers l'homozygotie doit, en réalité - comme le montrent des travaux récents (cf. bibliographie complète dans ALLARD et JAIN 1962 ; IMAM et ALLARD 1965) - exiger un nombre relativement important de générations, il y a tout lieu de penser que, dans le cas de C. elegans, le maintien de la souche par autofécondation pendant 700 générations avant que ne débute l'expérimentation garantit l'homogénéité génique des Nématodes qui doivent former une véritable "lignée pure".

On est donc conduit à chercher le support d'une éventuelle hétérogénéité génétique dans des structures non géniques.

En simplifiant à l'extrême, on peut envisager, par exemple, l'existence dans la cellule de deux catégories d'organites qui, en présence de la stimulation thermique, réagiraient dans des sens opposés : les uns s'orienteraient alors vers un comportement pathologique qui entraîne plus ou moins tôt la stérilité complète ; les autres au contraire maintiendraient une activité cellulaire normale. Dans ces conditions, l'accoutumance peut être conçue comme résultant de l'élimination de l'une des deux catégories considérées.

Une vue plus nuancée des choses pourra être fournie par un modèle dans lequel la vie cellulaire normale est assurée par un équilibre, entre diverses structures ou processus, qui dépend lui-même d'une situation initiale. Si certains facteurs, une élévation de température par exemple, modifient cet équilibre, on peut concevoir l'entrée en jeu de processus régulateurs qui, le temps aidant, parviendraient à rétablir une situation compatible avec une fécondité stable. Dans le cadre d'hypothèses de ce genre, les processus stérilisateurs S - dont j'ai été conduit à supposer l'existence comme nous l'avons vu plus haut - correspondraient aux facteurs de déséquilibre ou à certaines transformations dont ils seraient responsables. Les processus d'accoutumance A correspondraient, au contraire, au fonctionnement des mécanismes régulateurs. Si l'on admet que l'adaptation à une certaine température maximale traduit une équilibration des processus cellulaires, on pourra imaginer qu'un nouvel incrément thermique déterminera un autre pas dans l'évolution de cet équilibre.

D'autres observations ont déjà montré l'existence de processus défavorables transmissibles et d'action cumulative. Rappelons, en particulier, les résultats de LANSING (1954) sur le Rotifère parthénogénétique Philodina citrina. Lorsque cette espèce est élevée en lignées contrôlées, en utilisant des géniteurs d'âge constant, la longévité de la lignée dépend de l'âge des reproducteurs employés. Avec des géniteurs âgés de 5 jours, la lignée subsiste indéfiniment ; avec des géniteurs de 12 jours, elle s'éteint en quatre générations. L'effet cumulatif de l'âge des reproducteurs ainsi observé pourrait s'expliquer par une modification caractéristique des équilibres entre constituants cellulaires ou par l'accumulation de métabolites défavorables.

D'autre part, en ce qui concerne la résistance aux insecticides où des phases de sensibilisation initiale (DERBENEVA-UKHOVA 1962 ; FORGASH et HANSENS 1962) ou de latence (cf. BROWN 1959) sont connues pour s'étendre sur une dizaine de générations, les auteurs (CROW 1957 ; MILANI 1958) ont été conduits à émettre des hypothèses relativement complexes dans le cadre d'une interprétation génique. Une interprétation non génique pourrait apporter à des situations de ce genre une réponse de caractère plus simple.

B - HYPOTHESE MUTATIONNISTE

L'hypothèse d'une préadaptation suppose que l'accoutumance résulte d'un

équilibre nouveau institué entre des structures intra-cellulaires dont la constitution élémentaire reste inchangée. L'hypothèse mutationniste repose, au contraire, sur l'idée que ces structures subissent elles-mêmes une modification. Les deux hypothèses s'opposeraient ainsi par leurs conceptions respectives du niveau auquel se produisent les changements.

Pour aboutir à une meilleure définition de ce niveau, la comparaison des deux théories mériterait d'être fouillée dans de nombreuses directions. Un point capital serait de reconnaître, parmi les structures cellulaires, celles dont les transformations pourraient être rendues responsables du phénomène d'accoutumance tel que je l'ai observé. A cet égard, trois explications sont possibles : mutations chromosomiques, géniques ou extra-chromosomiques.

1) MUTATIONS CHROMOSOMIQUES

C'est l'hypothèse la moins plausible car, nous l'avons vu, l'étude de la gamétogenèse n'a permis de reconnaître aux formes adaptées ni un nombre particulier de chromosomes ni une évolution méiotique originale.

2) MUTATIONS GENIQUES

Comme nous l'avons vu précédemment, les caractéristiques observées dans la transmission de l'accoutumance et dans sa stabilité rendent peu vraisemblable son explication par une modification intervenant au niveau du gène. L'étude du développement même de l'adaptation conduit à des conclusions qui vont dans le même sens. En effet, on admet généralement qu'il est très difficile de concevoir une succession de mutations géniques favorables assurant l'accoutumance d'un organisme à des conditions de milieu de plus en plus sévères. La difficulté est bien plus grande encore si l'on tient compte de ce que l'adaptation se produit sur plusieurs lignées élevées parallèlement. En outre, au niveau où la phase de sensibilisation marque son effet maximum, on constate que plus de la moitié des animaux restent fertiles et semblent donc capables de fournir une lignée acclimatée à une température plus élevée. On ne peut imaginer qu'un taux de mutation aussi élevé survienne dans le petit nombre de générations auxquelles correspond la phase de sensibilisation. Il faudrait, dans ces conditions, admettre que ces mutations se sont accumulées durant la phase de lente adaptation à la température

immédiatement inférieure.

Mais peut-on supposer que des mutations provoquées se succèderaient ainsi de telle sorte qu'elles aboutissent à un changement graduel ? On se trouve alors en face du problème des mutations géniques dirigées dont, actuellement, l'existence ne peut guère être envisagée autrement que comme une éventualité. Les données de CUENOT sur Chelidonium (GUYENOT 1930), le fait qu'on puisse parfois dresser un "spectre" de l'effet mutagène, ne sont pas des arguments suffisamment convaincants. Il en va de même des considérations de BALDWIN (1902), SIMPSON (1953), WADDINGTON (1953) sur "l'effet Baldwin", NOVASSE (1950) sur la "sélection parallèle", GOLDSCHMIDT (1937) sur "l'induction parallèle".

Certaines expériences ont cependant fourni des résultats étonnants :

- JOLLOS (1931), en soumettant des *Drosophiles* à des chocs thermiques de 35-36°C, obtint certaines mutations avec une fréquence assez élevée. En traitant à nouveau par la chaleur quelques uns des mutants ainsi obtenus, il fit apparaître des allèles réalisant des écarts encore plus grands, de telle sorte qu'il se manifesterait une sorte d'orthogénèse dans ces mutations successives ;

- Chez Saccharomyces cerevisiae Yeast Foam (ANTOINE, 1965 a et b), les ions cuivriques agissent comme toxique. Ils exercent sur un gène $Cu_{0,5}$, contrôlant une résistance faible à ce poison, une action spécifique qui le fait passer, dans une première étape mutationnelle, sous une forme Cu_{MR} conditionnant une résistance supérieure à celle de $Cu_{0,5}$. Dans une seconde étape, les ions cuivriques provoquent spécifiquement la mutation de Cu_{MR} en Cu_1 , forme du gène qui définit la résistance la plus élevée.

Finalement, de telles observations sont trop peu nombreuses et mes propres indications en ce sens si peu encourageantes, qu'il paraîtrait osé de fonder sur un mécanisme de mutations géniques l'explication de l'accoutumance constatée. Il reste cependant que, dans l'avenir, il sera peut-être possible d'affecter, à de véritables mutations géniques, un rôle essentiel dans l'adaptation. En effet, si l'on admet, par exemple, que l'acheminement progressif vers un équilibre crée une situation d'accoutumance douée d'une stabilité qui est seulement relative et soumise aux conditions ambiantes, on peut envisager qu'une étape mutationnelle

relativement simple confèrera à cette stabilité un caractère plus définitif. Il suffirait pour cela que la mutation touche l'une des étapes du processus d'adaptation pour lui retirer son caractère de réversibilité, établissant ainsi un verrou qui va conférer aux caractéristiques thermiques une stabilité génique. Si ce "verrou" était poussé lorsque l'animal qui le porte est en phase non adaptée, sa descendance deviendrait inadaptable. Si, au contraire, il était poussé en phase adaptée, la lignée resterait irréversiblement accoutumée. L'existence de la race Bristol de C. elegans pourrait éventuellement relever d'une explication de ce genre. Peut-être trouvera-t-on, dans un tel processus, l'explication de certaines formes d'assimilation génétique (WADDINGTON 1961) et, d'une façon générale, de la fixation par mutation au sein du génome de propriétés qui auraient pu trouver leur origine ailleurs.

3) MUTATIONS EXTRA-CHROMOSOMIQUES

La plupart des auteurs considèrent que seuls les caractères à transmission extra-nucléaire peuvent être modifiés dans un sens prévisible par divers facteurs externes.

Or de nombreuses observations concernant des modifications de cette nature décrivent des changements que l'on peut considérer comme adaptatifs :

- Utilisation de métabolites inhabituels (Bactéries : DEAN et HINSHELWOOD 1965 b ; Levures : KOSSIKOV 1957 ; Aspergillus glaucus : JINKS 1959 - KLASTERKA 1963).

- Résistance à l'effet de certains toxiques (Bactéries : DEAN et HINSHELWOOD 1964 b ; Saccharomyces ellipsoideus : ANTOINE 1964 ; Aspergillus : ARLETT 1957 - BRIAULT 1956 - JINKS 1959 a - KLASTERKA 1963 ; Chlamydomonas : GILLHAM et LEVINE 1962 ; SAGER 1965 ; Tetrahymena : Mc CASHLAND et ANDRESEN 1963).

Le caractère adaptatif de ces modifications oblige évidemment à penser qu'elles reposent sur des structures dotées d'une certaine labilité et cependant susceptibles de transmission. Toutes propriétés que l'on peut concevoir aussi bien au niveau des plasmagènes ou d'épisomes à structure particulière qu'à celui d'états cytoplasmiques dont la définition est évidemment plus floue. En revanche, ces caractéristiques paraissent beaucoup plus difficiles à insérer dans la mécanique

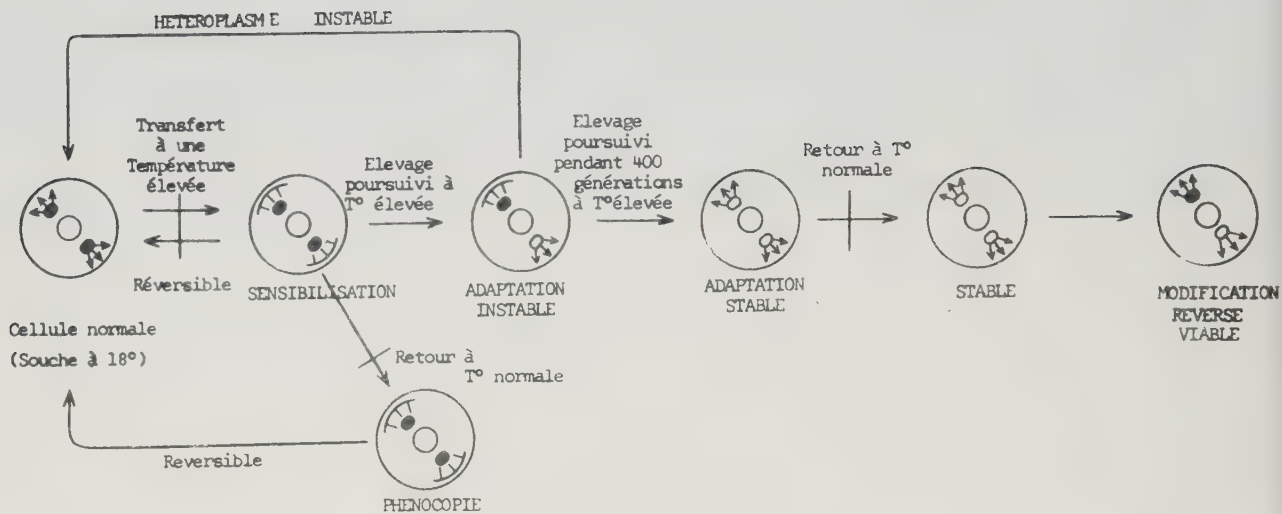
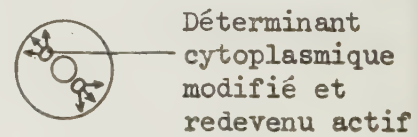
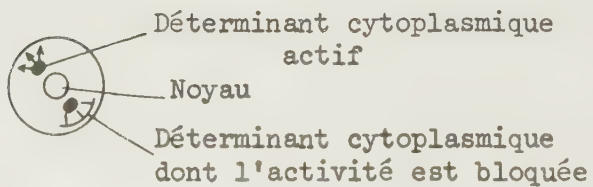


Figure III - 6 - Schéma théorique traduisant les modalités de l'adaptation de *C. elegans* aux températures élevées par suite de modifications de caractères à transmission extranucléaire



rigide qui gouverne la synthèse et la répartition de l'ADN chromosomique.

Dans d'autres cas, la modification observée présente un caractère qui va à l'encontre d'une adaptation. Ainsi des facteurs responsables de la sénescence chez Podospora anserina (RIZET et al., 1958) et de la mort végétative et conidiale chez Aspergillus glaucus (JINKS 1959 b). Il serait sans doute possible d'expliquer également de cette façon les observations de LANSING déjà exposées.

Dans le cadre d'une hypothèse de cette nature, JINKS (1964) fournit un schéma qui pourrait éventuellement s'appliquer au cas de l'acclimatation de C. elegans (fig. III - 6). Il faudrait cependant compliquer encore ce schéma pour le rendre en mesure d'apporter une explication à l'ensemble des observations que j'ai faites. On pourrait admettre, par exemple, que l'activité des déterminants supposés dépend non seulement de leur structure mais aussi d'une situation intra-cellulaire sensible à l'égard de facteurs externes et internes. L'adaptation résulterait alors d'une modification des déterminants qui les rend capables de rester actifs malgré un certain degré de modification subie par la structure cellulaire. En quelque sorte, les déterminants supposés deviendraient relativement indépendants vis-à-vis des variations cytoplasmiques ambiantes et l'on imagine volontiers qu'une telle indépendance puisse comporter des degrés.

Conçue de cette façon, cette hypothèse conduirait à admettre que les structures cellulaires altérées comporteraient, en elles-mêmes, un certain degré de transmissibilité. De sorte que l'on revient, par cette voie, à la notion de processus stérilisateurs S transmissibles. En revanche, le processus d'accoutumance A apparaît ici comme le résultat d'une étape mutationnelle au sein d'une structure cytoplasmique auto-reproductible. Le caractère relativement réversible de l'accoutumance pourrait alors s'expliquer en supposant que les déterminants n'ont pas tous été modifiés de sorte que l'on revient à une forme de sélection intracellulaire. Ou bien, il faudrait admettre que la transformation des déterminants responsables répond elle-même à un mécanisme doué de réversibilité.

En définitive, tous les éléments de réflexion convergent pour nous conduire à supposer que le processus observé pourrait trouver son origine dans des modifications portant, au départ du moins, sur des structures non géniques. Ces

modifications peuvent être conçues comme un changement d'équilibre, plus ou moins progressif, entre structures existantes, ou comme une série de mutations produites au niveau de telles structures, ou comme une combinaison quelconque de ces deux hypothèses. L'intervention de phénomènes géniques, si elle se produit, ne pourra guère être envisagée, dans le cadre des résultats apportés, qu'à un niveau passablement avancé de l'adaptation. Il ne s'agit là sans doute que de réflexions dont le caractère logique ne saurait faire oublier que nous ne disposons pas encore, en ce qui concerne le phénomène que nous avons étudié, d'une preuve expérimentale définitivement positive, en faveur d'une hypothèse précise. Les réflexions précédentes auront pour principal intérêt de nous armer mieux pour de nouvelles expériences poursuivies précisément dans ce but. Car il est à craindre que ce travail, qui a déjà occupé de longues années, devra s'étendre encore sur une durée importante avant qu'il soit possible d'apporter une réponse ferme aux questions qu'il nous a permis de poser.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AFIFI S.E.D., KNUTSON H., 1956. Reproductive potential, longevity and weight of houseflies which survived one insecticidal treatment. J. econ. Ent., 49, 310-313.
- ALLARD R.W., JAIN S.K., 1962. Population studies in predominantly self-pollinated species. II. Analysis of quantitative genetic changes in a bulk-hybrid population of barley. Evolution, Lancaster, Pa., 16, 90-101.
- ANTOINE A., 1964. La résistance de la levure aux ions cuivriques. I. Saccharomyces ellipsoideus. Expl. Cell Res., 36, 73-85.
- ANTOINE A., 1965. La résistance de la levure aux ions cuivriques. II. Saccharomyces cerevisiae, Yeast Foam, influence des ions Cu^{2+} sur l'apparition de cellules résistantes. Expl. Cell Res., 37, 278-291.
- ANTOINE A., 1965. La résistance de la levure aux ions cuivriques. III. Saccharomyces cerevisiae, Yeast Foam, nature de deux formes résistantes. Expl. Cell Res., 40, 570-584.
- ARLETT C.F., 1957. Induction of cytoplasmic mutations in Aspergillus nidulans. Nature, Lond., 179, 1250-1251.
- ARLETT C.F., GRINDLE M., JINKS J.L., 1962. The "red" cytoplasmic variant of Aspergillus nidulans. Heredity, Lond., 17, 197-209.
- BALDWIN J.M., 1902. Development and evolution. London, 1 vol.
- BEALE G.H., 1954. The genetics of Paramecium aurelia. Cambridge Univ. Press, 1 vol., 179 p.

- BRAWERMAN G., CHARGAFF E., 1960. A self-reproducing system concerned with the formation of chloroplasts in Euglena gracilis. Biochim. biophys. Acta, 37, 221-229.
- BRIAULT P.G., 1956. Cytoplasmic changes associated with adaptation and differentiation. Nature, Lond., 178, 1223-1224.
- BRUN J., 1966 a. Influence des conditions de milieu sur la fécondité de C. elegans à différentes températures (sous presse).
- BRUN J., 1966 b et c. L'adaptation aux températures élevées chez un Nématode : Caenorhabditis elegans Maupas 1900. I et II. Ann. Biol. anim. Bioch. Bioph. (sous presse).
- CASPARI E., 1949. Physiological action of eye color mutants in the moths Ephestia kühniella and Ptychopoda seriata. Quart. Rev. Biol., 24, 185-189.
- COCHRAN D.G., GRAYSON J.M., LEVITAN M., 1952. Chromosomal and cytoplasmic factors in transmission of DDT resistance in the German cockroach. J. econ. Ent., 45, 997-1001.
- COCHRAN D.G., ROSS M.H., 1962. Inheritance of resistance to DDT in Blattella germanica. J. econ. Ent., 55, 88-89.
- CROW J.F., 1957. Genetics of insect resistance to chemicals. A. Rev. Ent., 2, 227-246.
- DEAN A.C.R., HINSHELWOOD C., 1964 a. Some basic aspects of cell regulation. Nature, Lond., 201, 232-239.
- DEAN A.C.R., HINSHELWOOD C., 1964 b. What is heredity. Nature, Lond., 202, 1046-1051.
- DELBRUCK M., 1949. Discussion du rapport de Sonneborn et Beale. Dans "Unités biologiques données de continuité génétique". Editions C.N.R.S., n° 7, Paris, p. 33-34.

- EPHRUSSI B., HOTTINGER H., ROMAN H., 1955. Suppressiveness : a new factor in the genetic determination of the synthesis of respiratory enzymes in yeast. Proc. natn. Acad. Sci., U.S.A., 41, 1065-1071.
- FALCONER D.S., 1960. Introduction to quantitative genetics. Ronald Press, New-York, 1 vol., 365 p.
- FATT H.V., DOUGHERTY E.C., 1963. Genetic control of differential heat tolerance in two strains of the nematode Caenorhabditis elegans. Science, N.Y., 141, 266-267.
- FAY R.W., BAKER W.C., GRAINGER M.M., 1949. Laboratory studies on the resistance of Anopheles quadrimaculatus to DDT and other insecticides. J. natn Malar. Soc., 8, 137-146.
- FORGASH A.J., HANSENS E.J., 1962. Effect of selection on cross resistance in diazinon-resistant Musca domestica. J. econ. Ent., 55, 679-682.
- GENERMONT J., 1963. Déterminisme génétique de la résistance au chlorure de calcium chez Paramecium aurelia. Archs Zool. exp. gén., 102, 181-182.
- GILLHAM N.W., LEVINE R.P., 1962. Studies on the origin of streptomycin resistant mutants in Chlamydomonas reinhardi. Genetics, Princeton, 47, 1463-1474.
- GOLDSCHMIDT R.B., 1937. A remarkable parallelism. Proc. natn. Acad. Sci., U.S.A., 23, 219-223.
- GRAYSON J.M., 1958. Polyfactorial and cytoplasmic inheritance of insecticide resistance in cockroaches. In "Seminar on the susceptibility of insects to insecticides". Panama, p. 124.
- GRINDLE M., 1964. Nucleo-cytoplasmic interactions in the "red" cytoplasmic variant of Aspergillus nidulans. Heredity, Lond., 19, 75-96.
- GUYENOT E., 1930. La variation et l'évolution. II. L'évolution. Doin, Paris, 1 vol., 414 p.

- HANSEN E.L., YARDWOOD E.A., NICHOLAS W.L., SAYRE F.W., 1960. Differential nutritional requirements for reproduction of two strains of Caenorhabditis elegans in axenic culture. Nematologica, 5, 27-31.
- HINSHELWOOD C.N., 1952. On the chemical kinetics of auto-synthetic systems. J. chem. Soc., 745-755.
- HINSHELWOOD C.N., 1960. The Royal Society. Anniversary address. Nature, Lond., 188, 974-979.
- HOVASSE R., 1950. Adaptation et évolution. Hermann, Paris, 1 vol., 138 p.
- JINKS J.L., 1959 a. Selection for adaptability to new environments in Aspergillus glaucus. J. gen. Microbiol., 20, 223-236.
- JINKS J.L., 1959 b. Lethal suppressive cytoplasms in aged clones of Aspergillus glaucus. J. gen. Microbiol., 21, 397-409.
- JINKS J.L., 1964. Extrachromosomal inheritance. Prentice Hall, Englewood Cliffs. 1 vol., 177 p.
- JOHNSTON E.F., BOGART R., LINDQUIST A.W., 1954. The resistance to DDT by house-flies. Some genetic and environmental factors. J. Hered., 45, 177-182.
- JOLLOS V., 1931. Gerichtete Mutationen und ihre Bedeutung für das Evolutionsproblem. Biol. Zbl., 51, 137-140.
- KLASTERSKA I., 1963. The effect of cytoplasmic factors on the variability of Aspergillus strains. Biologia Pl., 5, 100-108.
- KOSSIKOV K.V., 1957. Directed hereditary changes of fermentative properties of yeast by a specific substrate. In "Drug resistance in microorganisms". Ciba Fdn Symp., 102-135.
- L'HERITIER P., 1962. Le problème de l'hérédité non chromosomique. Revue Quest. scient., 23, 208-251.

- Mc CASHLAND B.W., ANDRESEN W.F., 1963. The nature of cyanide adaptation in Tetrahymena pyriformis W. Growth, 27, 47-56.
- MAHONY M., WILKIE D., 1958. An instance of cytoplasmic inheritance in Aspergillus nidulans. Proc. R. Soc. B., 148, 359-361.
- MARCOU D., 1961. Notion de longévité et nature cytoplasmique du déterminant de la sénescence chez quelques champignons. Annls. Sci. nat. Botan., 12, 653-674.
- MILANI R., 1958. Some aspects of genetic research on insecticide resistance. Riv. Parassit., 18, 199-202.
- MITCHELL M.B., MITCHELL H.K., 1952. A case of "maternal" inheritance in Neurospora crassa. Proc. Natn. Acad. Sci., U.S.A., 38, 442-449.
- NIGON V., 1951. Polyploïdie expérimentale chez un Nématode libre, Rhabditis elegans Maupas. Bull. biol. Fr. Belg., 22, 187-225.
- NIGON V., DOUGHERTY E.C., 1954. Variations dans la vitesse de croissance chez un Nématode Caenorhabditis elegans Maupas. IXème Congrès International de Génétique. Caryologia, vol. suppl., p. 796-797.
- NOVICK A., Mc COY A., 1958. Quasi genetic regulation of enzymatic level. In "Physiological adaptation". C.L. Prosser, ed., Baltimore Press, Baltimore, 140-157.
- PIMENTEL D., SCHWARDT H.H., DEWEY J.E., 1954. The inheritance of DDT resistance in the housefly. Ann. ent. Soc. Am., 47, 208-213.
- PITTENGER T.H., 1956. Synergism of two cytoplasmically inherited mutants in Neurospora crassa. Proc. natn. Acad. Sci., U.S.A., 42, 747-752.
- POLLOCK M.R., 1958. Enzymic "de-adaptation" : the stability of an acquired character on withdrawal of the external inducing stimulus. Proc. R. Soc. B., 148, 340-352.

- RASMUSSEN B., 1952. Evidence of an autonomous cytoplasmic system in Drosophila melanogaster influencing the resistance to ether. Hereditas, 38, 504-505.
- RIZET G., MARCOU D., SCHECROUN J., 1958. Deux phénomènes d'hérédité cytoplasmique chez l'Ascomycète Podospira anserina. Bull. Soc. fr. Physiol. vég., 4, 136-149.
- ROBERTSON F.W., 1955. Selection response and the properties of genetic variation. Cold Spring Harb. Symp. quant. Biol., 20, 166-177.
- SAGER R., 1965. Non-chromosomal genes in Chlamydomonas. In "Genetics To-day". Edit. by S.J. Geerts, Pergamon Press, Oxford, III, 579-589.
- SIMPSON G.G., 1953. The Baldwin effect. Evolution, Lancaster, Pa., 7, 110-117.
- SONNEBORN T.M., 1943. Gene and Cytoplasm. I. The determination and inheritance of the killer character in variety 4 of Paramecium aurelia. Proc. natn. Acad. Sci., U.S.A., 29, 329-343.
- SONNEBORN T.M., 1951. Some current problems of genetics in the light of investigations on Chlamydomonas and Paramecium. Cold Spring Harb. Symp. quant. Biol., 16, 483-503.
- WADDINGTON C.H., 1953. The Baldwin effect, genetic assimilation and homeostasis. Evolution, Lancaster, Pa., 7, 386-387.
- WATANABE T., FUKASAWA T., 1962. Episome-mediated transfer of drug resistance in Enterobacteriaceae. IV. Interactions between resistance transfer factor and F-factor in Escherichia coli K-12. J. Bact., 83, 727-735.
- WRIGHT S., 1933. Inbreeding and homozygosis. Proc. natn. Acad. Sci., U.S.A., 19, 411-420.

DEUXIEME THESE

Propositions données par la Faculté :

2ème thèse : Influence des conditions de milieu sur la fécondité
de C. elegans à différentes températures

Vu et approuvé :

Le Doyen de la Faculté des Sciences

J. BRACONNIER

Vu et accordé le permis d'imprimer :

Lyon, le 9 mars 1966

Le Recteur,

Président du Conseil de l'Université

P. LOUIS

